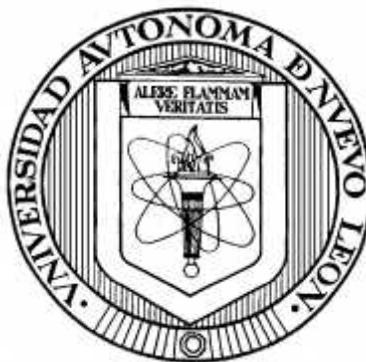


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL UNIVERSITARIO “DR JOSÉ ELEUTERIO GONZALEZ “



**UTILIDAD DEL HIERRO SERICO COMO FACTOR DE RIESGO
EN PRECLAMPSIA**

Por

OSCAR RUBÉN TREVIÑO MONTEMAYOR

**Como requisito parcial para obtener el
Grado de**

**ESPECIALIDAD EN GINECOLOGÍA y
OBSTETRICIA**

Febrero 2016

UTILIDAD DEL HIERRO SERICO COMO FACTOR DE RIESGO EN
PRECLAMPSIA

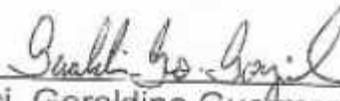
Aprobación de tesis



Dr. José Luis Iglesias Benavides
Coordinador de tesis y
Profesor adscrito del Departamento
de Ginecología y Obstetricia



Dr. César Homero Gutiérrez Aguirre
Asesor de tesis y
Profesor adscrito del
Servicio de Hematología



Dra. Sci. Geraldina Guerrero González
Coordinadora de investigación
del Departamento
de Ginecología y Obstetricia



Dr. Med. Donato Saldivar Rodríguez
Jefe del servicio de Ginecología y Obstetricia



Dra. med. Raquel Garza Guajardo
Subdirectora de Estudios de Posgrado

DEDICATORIA Y/O AGRADECIMIENTOS

Antes que nada, agradezco a Dios, el Gran Arquitecto del Universo, quien me ha regalado el don de la vida, me ha brindado las oportunidades para seguir en el hermoso camino de la medicina, que con su gracia me ha rodeado de personas nobles y extraordinarias a quienes llamo familia, esposa y amigos.

A mis padres, Rubén y Maribel, que gracias a ellos he intentado ser un hombre de bien, por darme siempre el apoyo necesario para alcanzar mis metas, el buen consejo forjado con los años de experiencia en este sendero de la vida. Mi padre que con su constancia y trabajo duro, ha logrado inspirarme para llegar a ser cabeza de familia, a quien siempre consideraré mi primer ejemplo, mi primer maestro y siempre mi mejor amigo. A mi madre, quien siempre me ha brindado su amor incondicional, me ha escuchado y guiado en los momentos de debilidad, la primera mujer importante en mi vida.

A mi esposa Ileana, quien ha confiado siempre en mí, siendo siempre fuente inagotable de paciencia y tolerancia en estos años de trabajo arduo, compartiendo el tiempo entre mis labores y nuestras actividades. Con quien estoy iniciando una nueva etapa en mi vida personal, y próximamente profesional. Quien me ha ayudado a dilucidar el significado del éxito emocional, personal y profesional. Mi compañera fiel. Te amo.

A mis maestros, por brindarme sus conocimientos y experiencia obtenida a lo largo de los años. Mostrarme los aciertos y errores cometidos en mi práctica, lo que me ha permitido alcanzar las herramientas, conocimientos y destrezas necesarias para mi desarrollo profesional.

A mi familia, mis abuelos que aunque no se encuentren físicamente en este mundo confío en que me acompañan y cuidan en todo momento; mis abuelas que siempre están al pendiente de mí como mis segundas madres, brindándome amor y consejo, y acompañándome siempre con su bendición.

A mis compañeros del hospital. Mis hermanos de grado Citlandi, Antonio, Daryl, Julio Leyva, Julio López, Cristóbal y Miguel, con quienes compartí estos cuatro años de mi vida, vivimos momentos difíciles y pasamos momentos muy gratos juntos, siempre apoyándonos y dispuestos a alzar la mano uno al otro para seguir adelante, hoy podremos decir lo hemos logrado. A mis compañeros de tercero, segundo y primer año, espero haberles podido brindar consejo y enseñanza de lo poco o mucho que pudiera conocer de esta bella profesión, sigan confiando en ustedes mismos.

A todas las personas que han sido parte de mi vida, no cabe duda que cada uno de ustedes ha contribuido en mayor o menor medida en mi persona, convirtiéndome en lo que soy hoy en día.

En una sola palabra, Gracias.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo I	Página
1. RESUMEN.	1
Capítulo II	
2. INTRODUCCIÓN.	3
Capítulo III	
3. HIPÓTESIS.	8
Capítulo IV	
4. OBJETIVOS.	9
Capítulo V	
5. JUSTIFICACIÓN.	10
Capítulo VI	
6. MATERIAL Y MÉTODOS.	11
Capítulo VII	
7. RESULTADOS.	16
Capítulo VIII	
8. DISCUSIÓN.	22

Capítulo IX	
9. CONCLUSIÓN.	29
Capítulo X	
10. BIBLIOGRAFÍA.	30
Capítulo XI	
11. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO.	44
CAPITULO XII	
12. APÉNDICES.	45

TABLAS

Tabla 1. Criterios para clasificar preeclampsia leve o severa.	4
Tabla 2. Características demográficas a la inclusión.	17
Tabla 3. Resultados de laboratorio.	18
Tabla 4. Resultado de hemograma.	19
Tabla 5. Características de los recién nacidos.	20

ABREVIATURAS

ROS: especies reactivas de oxígeno

DMG: Diabetes mellitus gestacional

SDG: semanas de gestación

PLT: plaquetas

OMS: Organización Mundial de la Salud

MPV: volumen plaquetario medio

PDW: ancho de distribución plaquetaria

WBC: leucocitos

NEU: neutrófilos

LYM: linfocitos

MONO: monocitos

HGB: hemoglobina

IMC: índice de masa corporal

TAM: presión arterial media

Fe⁺: hierro

FS: ferritina sérica

CAPITULO I

RESUMEN

Introducción. La preeclampsia afecta a uno de cada diez embarazos. Una teoría para explicar su patogenia es el estrés oxidativo. Se piensa que el hierro puede contribuir a agravar el estrés oxidativo. Durante el embarazo es utilizado el hierro profiláctico independientemente de los niveles de ferritina iniciales. El objetivo de este estudio fue correlacionar los niveles de ferritina con el desarrollo de preeclampsia.

Material y métodos. Se trata de un estudio prospectivo, comparativo, transversal, en el cual se incluyeron pacientes con preeclampsia y embarazadas sanas de más de 20 semanas de gestación. Todas habían recibido hierro oral como profilaxis. Se determinaron niveles séricos de ferritina, transferrina, hierro y glucosa.

Resultados. Sesenta y un mujeres fueron incluidas, 31 con preeclampsia y 30 controles embarazadas sanas. Las mujeres en el grupo de preeclampsia tenían mayor peso, índice de masa corporal y presión arterial media; también tuvieron mayor incidencia de diabetes gestacional (12.9 frente a 0%). El nivel

de transferrina sérica fue similar en ambos grupos ($p = 0.831$), mientras que el hierro sérico fue mayor en pacientes con preeclampsia (103.9 frente a 90.8 ug/dl) ($p= 0.345$). Se encontró una diferencia significativa ($p= 0.019$) en niveles de ferritina, siendo más altos en el grupo de preeclampsia (mediana 36.5 vs 20.9g/L). El valor de ferritina sérica $>40\text{mg/L}$ correlacionó con riesgo de preeclampsia ($r = 0.281$; $p = 0.032$). Se observó una correlación positiva entre los niveles elevados de glucosa y los niveles de ferritina sérica elevada ($r= 0.111$, $p= 0.405$). No se encontraron diferencias en el hemograma; Sin embargo, la incidencia de trombocitopenia (plaquetas $<100 \times 10^9/\text{L}$) fue del 12.9% en el grupo con preeclampsia y el 3.3% en el grupo control ($p= 0.354$).

Conclusión. El nivel de ferritina sérica elevado se correlaciona con una mayor incidencia de la preeclampsia y diabetes gestacional en mujeres embarazadas que reciben hierro profiláctico.

Palabras clave: preeclampsia, embarazo, diabetes gestacional, sobrecarga de hierro.

CAPITULO II

INTRODUCCION

Las enfermedades hipertensivas son las complicaciones más frecuentes que afectan el embarazo, afectando incluso a 8 de cada 100 embarazos en EUA (1). En México, de acuerdo con la Secretaría de Salud, la preeclampsia representa hasta 34% del total de las muertes maternas, por lo que constituye la principal causa de muerte asociada a complicaciones del embarazo (2). Debido a lo anterior se ha logrado clasificar estas patologías en 4 grupos que comprenden: enfermedad hipertensiva crónica, hipertensión gestacional, preeclampsia y preeclampsia sobreañadida a hipertensión crónica. A pesar de los avances en el diagnóstico y tratamiento, no se cuenta aún con una cura para esta entidad que el nacimiento del feto y la concurrente expulsión de la placenta.

La preeclampsia, es una enfermedad que comprende un grupo de procesos multi-orgánicos, los cuales ocurren posteriormente a las 20 semanas de gestación. Tiene una presentación variable, pero en la mayor parte de los casos incluye la combinación de hipertensión materna y proteinuria (3). Dentro de los factores de riesgo reconocidos para esta entidad se encuentran la nuliparidad, antecedente personal o familiar de preeclampsia,

diabetes, sobrepeso u obesidad, embarazo múltiple, edad materna, enfermedad renal, enfermedad crónica autoinmune, hipertensión preexistente y aumento en la ganancia de peso durante el embarazo (4,5).

Se clasifica como leve o severa según en base al nivel de hipertensión, proteinuria y compromiso a otros aparatos o sistemas, Tabla 1 (6). Su presentación clínica es muy variable, desde asintomática, alcanzando incluso crisis convulsivas. Entre los signos y síntomas que presentan las pacientes con esta enfermedad y por los cuales debe ser referida a un centro de atención se encuentran: cefalea, mareo, dolor epigástrico, alteraciones visuales, hematemesis, náusea, vómito, dolor hepático, oliguria/anuria, disnea, hematuria/hemoglobinuria, convulsiones (7).

Tabla 1. Criterios para clasificar preeclampsia leve o severa.

Preeclampsia leve	Preeclampsia severa
<ul style="list-style-type: none"> • Presión arterial sistólica 140 mm Hg o presión arterial diastólica > 90 mm Hg en una mujer previamente normotensa, después de la semana 20 de gestación. Su verificación requiere por lo menos dos tomas con diferencia de seis horas entre cada una, con la paciente en reposo y en un lapso no mayor de siete días. • <i>Proteinuria</i> 300 mg en una recolección de orina de 24 horas o 30 mg/dL en dos muestras de orina tomadas al azar, con 	<ul style="list-style-type: none"> • Tensión arterial 160 o 110 mm Hg en por lo menos dos tomas con un mínimo de diferencia de seis horas entre cada una. • Proteinuria 2 g en orina de 24 horas. • Oliguria: diuresis < 500 mL en 24 horas. • Creatinina sérica 1.2 mg/dL. • Trastornos cerebrales severos persistentes o alteraciones visuales. • Edema agudo pulmonar. • Dolor epigástrico o en cuadrante superior derecho del abdomen.

<p>diferencia de seis horas entre cada una, en un lapso no mayor de siete días.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sin evidencia de compromiso multisistémico o de vasoespasmo persistente 	<ul style="list-style-type: none"> • Disfunción hepática (aspartato aminotransferasa > 70 UI/L). • Trombocitopenia (< 100 000 mm³). • Coagulación intravascular diseminada. • Cianosis. • Restricción del crecimiento intrauterino debido a insuficiencia uteroplacentaria.
---	---

Tiene una etiología multifactorial (8), por lo cual se cuentan con varias teorías de su patogénesis, entre ellas tenemos la implantación placentaria anormal (9), la acción de factores angiogénicos asociados (10), factores genéticos tanto de la paciente como la pareja (11), factores inmunológicos que interactúan del tejido materno y feto-placentario (12), entre otros.

Durante el embarazo se observa un incremento en los productos resultantes del estrés oxidativo, el cual puede ser explicado por la gran actividad mitocondrial ocurrida en la placenta; en etapas tempranas del embarazo la placenta se encuentra en un ambiente hipóxico, el cual va cambiando gradualmente conforme avanza el embarazo al presentarse la maduración placentaria en conjunto con su vascularización, derivando en un ambiente rico en oxígeno en el cual se producen grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno (ROS) (13).

Los hidroperóxidos lipídicos son formados a partir de fosfolípidos insaturados, glucolípidos y colesterol a partir de reacciones peroxidativas, razón por la cual son utilizados como marcadores séricos que demuestran el

estado de estrés oxidativo (14). En pacientes con preeclampsia estos marcadores se encuentran aumentados, por encima de lo que normalmente se encuentran en las gestantes sanas (15). Niveles altos de ROS con el consecuente aumento de peroxidación lipídica han sido asociados a diferentes enfermedades como aterosclerosis (16), diabetes (17), diversos tipos de cáncer, enfermedad de Alzheimer (18), entre otras, e incluso se han asociado al proceso de envejecimiento (19) y en lo concerniente a la obstetricia se han relacionado con los procesos fisiopatológicos de la preeclampsia y diabetes gestacional (20,21).

El sulfato ferroso es la sal de hierro más utilizada en las pacientes embarazadas como profiláctico contra la anemia, y se estima que cada 5 mg de sulfato ferroso contienen 1 mg de hierro elemental (22), en situaciones en que se excede la dosis de este mineral las proteínas a las cuales se une dentro del organismo (ferritina y transferrina), se saturan por lo cual se encuentra en forma libre, la cual es una de las principales especies químicas involucrada en generación de estrés oxidativo (13,15). El organismo se defiende de la amenaza representada por el aumento de hierro sérico por medio de la quelación con las proteínas mencionadas aumentando su actividad antioxidante, sin embargo, cualquier falla en los mecanismos de defensa en la paciente embarazada puede resultar en una alta tasa de estrés oxidativo con consecuencias sobre ella así como el producto de la gestación (23).

Durante el control prenatal se solicitan diversos exámenes de laboratorio, uno de ellos es el hemograma para la valoración de los niveles de hemoglobina, pero, en la mayoría de los centros se suministra suplementación con hierro en forma ferrosa aunado a multi-vitamínicos que incluyen vitamina C (que aumenta la absorción del hierro) independientemente del valor inicial de hemoglobina (23). Una de las razones por las cuales se continúa usando este manejo es la alta tasa de deficiencia de hierro en pacientes, sobre todo aquellas que radican en países en vías de desarrollo (24). A pesar de lo mencionado, usualmente no se evalúan los niveles de ferritina sérica en las mujeres embarazadas, valor que podría ser de utilidad ya que en pacientes con preeclampsia han sido reportados valores elevados incluso con valores de hemoglobina similar a pacientes con embarazo normoevolutivo.

Algunas asociaciones como la Organización Mundial de la Salud, recomiendan el uso de hierro oral como profiláctico de manera generalizada a dosis de 60mg/día, pero si se toma en consideración la dosis ingerida en la dieta a razón de 10mg/día, en aproximadamente 20 semanas se estarían recibiendo aproximadamente 10g de hierro con una biodisponibilidad de aproximadamente 1-2g, suficiente para cubrir los requerimientos de la totalidad del embarazo (de aproximadamente 1.2g) e incluso sobrepasarlos exponiendo a la paciente al riesgo de encontrarse en un estado de estrés oxidativo con todas las consecuencias previamente señaladas (13,23–25).

CAPITULO III

HIPÓTESIS

Hipótesis del trabajo:

El uso profiláctico de hierro durante el embarazo y su sobrecarga es un factor de riesgo para desarrollar preeclampsia.

Hipótesis nula:

El uso profiláctico de hierro durante el embarazo y su sobrecarga no es un factor de riesgo para desarrollar preeclampsia.

CAPITULO IV

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Demostrar la relación que existe entre la sobrecarga de hierro sérico por administración profiláctica durante el embarazo y el riesgo de preeclampsia.

OBJETIVO(S) SECUNDARIO(S)

Demostrar relación entre los niveles de ferritina sérica y el desarrollo de diabetes gestacional.

Comparar los resultados neonatales de los productos en pacientes con preeclampsia vs pacientes en el grupo control en relación a los niveles séricos de ferritina.

CAPITULO V

JUSTIFICACIÓN

En México, la preeclampsia representa hasta 34% del total de las muertes maternas, por lo que constituye la principal causa de muerte asociada a complicaciones del embarazo.

En la mayoría de los centros se suministra suplementación con hierro en forma ferrosa aunado a multi-vitamínicos que incluyen vitamina C (que aumenta su absorción) independientemente del valor inicial de hemoglobina.

Suele utilizarse hierro vía oral profiláctico a dosis de 60mg/día. Si añadimos la dosis ingerida en la dieta a razón de 10mg/día, en aproximadamente 20 semanas se estarían recibiendo cantidades suficientes para cubrir los requerimientos de la totalidad del embarazo (de aproximadamente 1.2g) e incluso sobrepasarlos, lo que expone a la paciente a estrés oxidativo con las complicaciones mencionadas.

CAPITULO VI

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño metodológico y población de estudio.

Se realizó un estudio prospectivo, comparativo y transversal en el período comprendido de Octubre de 2012 a Mayo de 2014 en pacientes embarazadas que acudieron a recibir atención en el área de Tococirugía del Departamento de Obstetricia del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio Gonzalez” quienes cursaban embarazo de 20 semanas de gestación o mayor, corroborando la edad gestacional con fecha de última menstruación, que corresponda a imagen por ultrasonido o prueba de embarazo sérica temprana.

Se conformaron dos grupos de pacientes en base al diagnóstico de preeclampsia ya sea leve o severa o pacientes embarazadas sanas, las cuales fueron elegidas de manera secuencial en base al ingreso hospitalario. Con una relación pacientes control de 1:1.

El número de pacientes incluidas fue por conveniencia del estudio calculado en 30 pacientes en cada uno de los grupos, que cumplieran con los criterios

de inclusión, debido a que del número de población finita de pacientes con diagnóstico de preeclampsia, no se contaban con datos históricos de utilización de hierro oral intravenoso o intramuscular o enfermedades asociadas.

Como criterios de inclusión se tomaron los siguientes:

- Pacientes embarazadas con más de 20 semanas de gestación (SDG) y diagnóstico de preeclampsia o cursando un embarazo sano.
- Haber recibido hierro vía oral, intramuscular o intravenoso como profilaxis de ferropenia durante el embarazo por más de 30 días.

Dentro de los criterios de exclusión se tomaron los siguientes:

- Haber recibido una transfusión de paquete globular en los últimos 30 días.
- Diagnóstico previo de hemocromatosis y/o Diabetes Mellitus tipo I o II
- Procesos infecciosos activos.
- Pacientes que no aceptaron firmar el consentimiento informado.

Ninguna paciente fue eliminada del estudio.

Historia clínica

Se realizó una historia clínica detallada de las pacientes que serían ingresadas al estudio, en la cual se incluyeron datos de identificación generales como nombre, edad, registro médico, antecedentes personales patológicos, antecedentes personales no patológicos; antecedentes gineco-obstétricos enfocando atención a la gesta, paridad, edad gestacional, antecedente de preclampsia en embarazos anteriores, historia de uso profiláctico de hierro detallando el tiempo de uso (fecha de inicio y término de tratamiento), vía de administración del mismo, dosis utilizada, indicación y marca comercial de éste. Se llevó a cabo un interrogatorio dirigido a síntomas de vasoespasmo (cefalea, acúfenos, tinnitus, epigastralgia), datos de proceso infeccioso activo. La exploración física detalló la tensión arterial al momento de ingreso, signos característicos de proceso hipertensivo en el embarazo tal como edema de miembros inferiores y reflejos osteo-tendinosos. En cuanto a los datos obtenidos al momento del nacimiento, se recabó el peso en gramos, talla en centímetros, valoración de Capurro, puntuación Apgar al primero y cinco minutos de vida extrauterina, así como el estado del recién nacido al momento de nacer y en los primeros días de vida (vivo/muerto), todos los datos fueron evaluados por el servicio de pediatría.

Estudios de laboratorio

Se obtuvieron diez mililitros de sangre venosa periférica almacenados en dos tubos de ensayo. Cinco mililitros se colocaron en un tubo con citrato como anticoagulante para llevar a cabo un recuento completo de células sanguíneas utilizando el analizador de hematología Sysmex XT- 4000i (Sysmex Corporation, Hyogo, Japón), y cinco mililitros se colocaron en un tubo sin anticoagulante para determinar las concentraciones de ferritina, transferrina, hierro sérico y glucosa en un procesador COBAS INTEGRA® 400 PLUS (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania). En el grupo control se tomaron todas las muestras de sangre antes del nacimiento. En el grupo de preeclampsia, se tomaron muestras al momento del diagnóstico, siempre antes del nacimiento del producto.

Análisis estadístico

Se utilizó el software MS Excel para Windows versión 14.0 para la recopilación de datos y el software IBM SPSS Statistics para Windows versión 20.0 para el análisis estadístico. Las características demográficas y resultados de laboratorio fueron descritos con medias con desviación estándar o medianas con rangos y/o porcentajes, respectivamente. Se realizó la prueba de Kolmogorov- Smirnov para determinar la normalidad de las muestras. La prueba de hipótesis se realizó para comparar los datos obtenidos de los dos grupos utilizando la prueba t de Student para datos cuantitativos paramétricos; de lo contrario, se utilizó la prueba de Mann - Whitney. Se utilizó la prueba Chi-cuadrada con estadístico exacto de Fisher

en datos cualitativos. El coeficiente de correlación de Spearman se utilizó para correlacionar la ferritina sérica con otros parámetros maternos, así como el riesgo de padecer preeclampsia. Un valor de $p < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo.

Ética

El presente estudio fue evaluado por el comité de ética del Hospital Universitario 'Dr. José Eleuterio González' de la UANL, y aceptado bajo el registro: HE 12-006.

CAPITULO VII

RESULTADOS

Características demográficas

Se incluyó un total de sesenta y un mujeres en este estudio, treinta y un pacientes con preeclampsia y treinta pacientes control embarazadas sanas. Sus características demográficas se presentan en la tabla 2. Al comparar los dos grupos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la edad, la altura, los días que recibieron hierro, dosis recibida ni vía de administración. Sin embargo, las pacientes con preeclampsia tenían mayor peso, índice de masa corporal y presión arterial media, al ser comparadas con las mujeres del grupo de control, con diferencias significativas de 0,029, 0,013 y $< 0,001$, respectivamente. La mayoría de los pacientes en el grupo de preeclampsia (58,1%) cursaban su primer embarazo y tenían menos semanas de gestación ($36 \pm 3,8$), lo cual mostró una diferencia significativa al ser comparadas con el grupo de pacientes control ($p = 0,004$ y $< 0,001$, respectivamente), no se encontró diferencia entre grupos en cuanto a antecedente de preeclampsia en embarazos previos. La incidencia de diabetes gestacional fue mayor en el grupo de pacientes con preeclampsia (12,9 %) que en los controles (0 %) sin representar una diferencia significativa ($p= 0,113$).

Tabla 2. Características demográficas a la inclusión.

		Preeclampsia (n=31)		Control (n=30)		P
		Media	DS	Media	DS	
Edad	(años)	25.7	±7.5	26.7	±6.2	0.576
Peso	(Kg)	89	±19.2	79.3	±14.2	0.029
Talla	(m)	1.59	±0.06	1.60	±0.07	0.931
IMC*	(Kg/m²)	34.7	±5.8	31.2	±4.8	0.013
TAM**	(mmHg)	110.6	±7.6	83.8	±7.1	<0.001
EG		36	±3.8	40	±1.1	<0.001
Días Fe****		183.9	±64.9	205.8	±79.4	0.269
		Mediana	Rango	Mediana	Rango	
Gesta		1	1-6	3	1-6	0.02
Dosis Fe⁺	(mg)	60	10-115	60	20-120.27	0.068
		n=	%	n=	%	
Primigrávidas		18	58.1	6	20	0.004
DMG		4	12.9	0	0	0.113

*El índice de masa corporal fue obtenido al medir el peso del paciente en Kg y dividiéndolo por su altura en metros al cuadrado.

** La presión arterial media se obtuvo por la siguiente fórmula [(presión diastólica + presión diastólica) + (presión sistólica)] /3

*** Los días fueron calculados desde el día inicial de la toma de hierro hasta el último.

Resultados de laboratorio

En la tabla 3 se muestra la comparación de los resultados de laboratorio de los pacientes con preeclampsia, frente a los controles sanos. Se encontró que la transferrina sérica fue similar en ambos grupos ($p = 0.831$) y el hierro sérico fue mayor en los pacientes con preeclampsia (103.9 frente a 90.8 ug/dl) ($p = 0.345$) sin mostrar diferencia significativa. Se observó una correlación positiva entre los niveles elevados de hierro y los niveles más

altos de ferritina sérica ($r= 0.297$; $p= 0.024$) en ambos grupos. También se encontró una diferencia estadísticamente significativa ($p= 0.019$) en la ferritina sérica, con niveles más altos en el grupo de pacientes con preeclampsia (mediana 36.5 vs. 20.9 $\mu\text{g/L}$, respectivamente). Se realizó un subanálisis considerando una ley de corte de 40 $\mu\text{g/L}$ de ferritina sérica, el 45.2% de los pacientes con preeclampsia y 20% en el grupo control estaban por encima de este valor ($P = 0.054$). El valor de ferritina sérica $>40 \mu\text{g/L}$ fue correlacionado con preeclampsia ($r= 0.281$; $p= 0.032$). La mediana del nivel de glucosa en suero fue mayor en los pacientes con preeclampsia (78.5 mg/dL) que en el grupo control (73.0 mg/dL), lo que representa una diferencia estadísticamente significativa ($p= 0.043$). Se observó una correlación positiva entre los niveles elevados de glucosa y niveles elevados de ferritina sérica ($r = 0.111$), pero sin diferencia significativa ($p = 0.405$).

Tabla 3. Resultados de laboratorio.

	Preeclampsia (n=31)		Control (n=30)		P
	Media	DS	Media	DS	
Transferrina (mg/dL)	407.6	± 70.9	411.2	± 59.5	0.831
Hierro (ug/dL)	103.9	± 65.16	90.8	± 39.6	0.345
	Mediana	Rango	Mediana	Rango	
Ferritina ($\mu\text{g/L}$)	36.5	4.3-1057.5	20.95	4.7-112.7	0.019
Glucosa (mg/dL)	78.5	56-388	73	45-86	0.043
	n=	%	n=	%	
Ferritina $>40\mu\text{g/L}^*$	14	45.2	6	20	0.054
Glucosa $>126\text{mg/dL}^{**}$	3	9.6	0	0	0.237

* Se tomó un corte de 40µg/L de ferritina para sub-análisis en base a lo reportado por estudio previos de relación con preeclampsia y parto prematuro (38-40).

** El punto de corte de 126mg/dL de glucosa se utilizó para sub-análisis por su uso como nivel de glicemia anormal en ayuno e pacientes embarazadas.

Sólo tres pacientes (9,6%) con preeclampsia tuvieron una glucosa >126 mg/dl y ningún paciente en el grupo control (p= 0.237). Cabe mencionar que 4 pacientes (12.9%) en el grupo de preeclampsia habían sido diagnosticadas con diabetes gestacional. Se analizaron y compararon los resultados de los recuentos sanguíneos completos de pacientes en ambos grupos (ver Tabla 4) y se encontraron diferencias significativas en el número promedio de leucocitos, neutrófilos, linfocitos o monocitos, los niveles de hemoglobina, recuento de plaquetas, distribución del volumen de plaquetas y volumen plaquetario. Sin embargo, la incidencia de trombocitopenia (plaquetas <100 x 10⁹/L) fue del 12.9% en el grupo con preeclampsia y el 3.3% en el grupo control (p= 0.354).

Tabla 4. Resultado de hemograma.

	Preeclampsia (n=31)		Control (n=30)		P
	Media	DS	Media	DS	
WBC (10³ /uL)	9.77	±3.23	9.68	±3.02	0.911
NEU (10³ /uL)	7.42	±2.93	7.48	±2.79	0.944
LYM (10³ /uL)	1.62	±0.58	1.55	±0.49	0.603
MONO (10³ /uL)	0.62	±0.58	0.59	±0.22	0.325
HGB (g/dL)	11.79	±1.24	11.4	±1.21	0.222
PLT (10³ /uL)	181.9	±65.29	188.2	±47.45	0.669
PDW (fL)	15.39	±2.41	14.89	±2.81	0.470
MPV (fL)	11.89	±0.99	11.5	±1.14	0.173
	n=	%	n=	%	
PLT <100 x 10³ /uL	4	12.9	1	3.3	0.354

Características de los recién nacidos

Al comparar las características de los neonatos en ambos grupos (ver Tabla 5), los de los pacientes con preeclampsia tenían menor peso (media de 2.555 gr frente a 3.455 gr), tuvieron talla menor (mediana de 48cm frente a 51cm) y se obtuvo menor puntuación de Capurro (mediana 38.1sdg frente a 40.0sdg) que los recién nacidos de mujeres en el grupo control, con diferencia estadísticamente significativa en todos estos parámetros ($p < 0.001$). De acuerdo con la puntuación de Apgar, el 9.7% de los recién nacidos tenían una puntuación baja (< 7 puntos) al primer minuto de vida extrauterina en el grupo nacido de madres con preeclampsia, en contraste con el 3.3% en el grupo control ($p = 0.612$); 6.5 % de los recién nacidos de madres con preeclampsia mantuvo un bajo puntaje de Apgar a los 5 minutos de vida y 3.3 % en el grupo control ($p = 1.0$). Dos recién nacidos murieron en el grupo de preeclampsia (6.5%) contra ninguno en el grupo control ($p = 0.492$). Las muertes se debieron a la prematuridad y en ambos casos las madres tenían > 40 ng/dl de ferritina sérica.

Tabla 5. Características de los recién nacidos.

Preeclampsia (n=31)		Control (n=30)		P
Media	DS	Media	DS	

Peso (gr)	2,555.39	±795.22	3,455	±354.27	<0.001
	Mediana	Rango	Mediana	Rango	
Talla (cm)	48	26-66	51	47-54	<0.001
CAPURRO (sem)	38.1	0-40.6	40.0	37.3-42.2	<0.001
APGAR minuto 1*	n=	%	n=	%	
Adecuado	28	90.3	29	96.7	0.612
Bajo	3	9.7	1	3.3	
APGAR minuto 5*					
Adecuado	29	93.5	29	96.7	1.0
Bajo	2	6.5	1	3.3	
Recién nacido					
Vivo	29	93.5	30	100	0.492
Muerto	2	6.5	0	0	

El puntaje en la evaluación APGAR (tono muscular, esfuerzo respiratorio, ritmo cardiaco, reflejos/irritabilidad y color de piel) fue otorgado por el pediatra a cargo el día del nacimiento, en una escala de 0-10 puntos.

*Los valores 1 y 5 representan los minutos de vida extrauterina a los cuales se realizaron las evaluaciones clínicas. valores menores a 7 puntos fueron interpretados como bajos los superiores se catalogaron como adecuados.

Sem: semanas (evaluación CAPURRO).

CAPITULO VIII

DISCUSIÓN

Al observar los informes de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que cada 7 minutos una mujer muere a causa de preeclampsia a nivel mundial (26,27). En países denominados como en vías de desarrollo, la preeclampsia se sitúa como la principal causa de muerte materna, representando más del 25% de las muertes (26,28,29). En nuestro país la preeclampsia es la principal causa de muerte asociada a complicaciones del embarazo (26,30).

Existen varios factores de riesgo asociados con preeclampsia (4), un estudio encontró que la obesidad materna y una ganancia mayor del peso gestacional recomendado representan factores asociados a esta entidad (31). En este estudio, se encontró que el sobrepeso y la obesidad son factores de riesgo que pueden estar asociados a preeclampsia, ya que se observó un mayor índice de peso e índice de masa corporal en los pacientes con preeclampsia que en los controles sanos, además de que un índice de masa corporal de 34,7 se asoció con esta patología.

La nuliparidad ha sido identificada como otro factor de riesgo, ya que algunos estudios han mencionado que esta condición aumenta el riesgo de

preeclampsia 3 veces. En nuestro grupo de pacientes con preeclampsia, la mayoría (58,1%) estaban en su primer embarazo, en contraste con el 20% de los del grupo de control ($p = 0,004$), lo que apoya la posible relación de la nuliparidad con la aparición de esta complicación.

El hierro es abundante en el tejido placentario y participa en la producción de radicales libres provocando estrés oxidativo, principalmente en el segundo trimestre del embarazo. En el embarazo normal, el proceso de implantación, la invasión del trofoblasto y el aumento de estrés oxidativo exacerban la producción de ROS, lo anterior, aunado al aumento de la peroxidación lipídica se ha asociado con enfermedades como preeclampsia y DMG (13,14,20,21). Se estima que, aproximadamente 5.4mg de hierro al día son necesarios para cumplir con los requisitos de gestación para el segundo trimestre y 6.7mg de hierro por día para el tercer trimestre, respectivamente (13,32). El sulfato ferroso es la sal de hierro más utilizada como profilaxis para la anemia por deficiencia de hierro, y se estima que cada 5mg de sulfato ferroso contienen 1mg de hierro elemental (22). En situaciones en que se excede la dosis de este mineral, las proteínas a las que se une (ferritina y transferrina) se saturan, dejando este mineral en su forma libre en la circulación, donde se convierte en una de las principales especies químicas que intervienen en la producción de estrés oxidativo (13,15). Como no existe un mecanismo fisiológico para la eliminación de hierro activo, el cuerpo hace frente a esta amenaza por el proceso de quelación, incrementando su actividad antioxidante. Sin embargo, cualquier fallo en los mecanismos de

defensa de la paciente embarazada puede resultar en un alto índice de estrés oxidativo con efectos potencialmente dañinos en la madre y el recién nacido (23). Según la OMS, 60mg por día de hierro oral son suficientes para prevenir la anemia ferropénica durante el embarazo. La ingesta férrica diaria en una dieta normal se calcula en 10mg por día, absorbiendo el 10% de éste, tomando en cuenta que los datos de absorción de hierro durante el embarazo no son consistentes (13), alrededor de las 20 semanas de gestación la paciente recibiría cerca de 10gr de hierro calculando una biodisponibilidad de 1-2gr, lo cual se considera suficiente para satisfacer las necesidades de todo el embarazo (aproximadamente 1.2 gr) e incluso superarla, exponiendo por ello a la paciente a un estado de estrés oxidativo (13,23–25). En este estudio, la mayoría de los pacientes estaban recibiendo la dosis de hierro recomendada por la OMS; sin embargo, el intervalo de dosis era grande (10 a 120 mg) en los dos grupos, sin presentar diferencias significativas entre ellos. En un estudio anterior, Kim J et al. encontraron que el calcio sérico y zinc fueron más bajos en las mujeres con preeclampsia que en aquellos con un embarazo saludable, mientras que el hierro sérico fue mayor en mujeres con preeclampsia (33). Siddiqui et al. llevaron a cabo un estudio, encontrando que las pacientes con preeclampsia tenían altos niveles de hierro sérico y ferritina (34). Se midieron y compararon las concentraciones séricas de la transferrina, ferritina y hierro entre las 31 pacientes del grupo de preeclampsia contra el de las 30 mujeres embarazadas sanas, y se observó que las concentraciones de hierro y ferritina fueron mayores en el grupo con preeclampsia, aunque sólo la

ferritina mostró diferencia estadísticamente significativa ($p= 0,019$). Esto puede explicarse por el exceso de la administración exógena de hierro, ya que durante el último trimestre de un embarazo normal los niveles de ferritina disminuyen y permanecen entre 7 y 28 ng/mL (35–37). El hierro y la ferritina pueden actuar como reactivos de fase aguda; Sin embargo, su participación como reactantes de fase aguda en los procesos inflamatorios crónicos es controvertido. Estudios previos han encontrado que las concentraciones de ferritina > 40 ng/dl se han asociado con riesgo de desarrollar preeclampsia, parto prematuro e infecciones (38–40). En base a esto, se realizó un subanálisis teniendo en cuenta los pacientes con concentraciones de ferritina > 40 ng/dL, observando que un mayor número de mujeres con valores > 40 ng/dl estaban en el grupo de preeclampsia (45,2%) al compararse con el grupo control (20%), sin representar una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,05$). Sin embargo, al realizar la prueba de Spearman, se encontró que un nivel sérico de ferritina por encima de 40 ng/dL se correlacionó con la aparición de preeclampsia ($r = 0,281$; $p = 0,032$).

Por otra parte, aunque algunos estudios han encontrado que las concentraciones de eritrocitos, hematocrito y hemoglobina son más altos en las mujeres con preeclampsia que en los embarazos sanos (34,41–43), otros no han encontrado diferencia significativa en estos valores (34,44,45). En nuestro estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en cuanto a estos parámetros. Algunos índices plaquetarios también han sido estudiados en pacientes con preeclampsia, entre ellos el

volumen medio de plaquetas (MPV) y la anchura de distribución de plaquetas (PDW) (46,47). Estos índices se han evaluado en un intento de explicar la fisiopatología de enfermedades vasculares, incluyendo la preeclampsia, pero su correlación continúa siendo desconocida (46,48–56). En un estudio que incluyó a 29 pacientes con preeclampsia, los investigadores observaron que estos pacientes tenían un menor número de plaquetas que las embarazadas sanas, lo que sugiere que el recuento de plaquetas podría predecir un diagnóstico de preeclampsia severa. Sus resultados son similares a estudios previos, los cuales encontraron niveles más bajos de plaquetas circulantes y un MPV más alto en mujeres con preeclampsia (46,52,55,57–61). Se comparó el recuento de plaquetas, MPV y PDW de las pacientes con preeclampsia contra el grupo de control y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p= 0.669$, $p= 0.173$ y $p= 0.470$, respectivamente), lo cual es consistente con estudios previos (44,46,62). Sin embargo, analizando el número de pacientes con menos de 100×10^3 plaquetas/ul, la incidencia de trombocitopenia fue mayor en el grupo de preeclampsia (12,9%) que en el grupo control (3,3%), pero no se encontró diferencia significativa ($p = 0,354$).

La relación entre las concentraciones de ferritina sérica y en el embarazo todavía no está clara (63). Algunos estudios sugieren que existe una asociación entre la deficiencia de hierro y el parto pretérmino espontáneo (63,64). Otros estudios han encontrado una relación entre el parto prematuro y la concentración de ferritina sérica, ya sea baja o alta (65–67). Las altas concentraciones de ferritina se han asociado con un mayor riesgo de parto

prematureo, preeclampsia y DMG (65). Un estudio que analizó la relación entre la ferritina sérica y el resultado del embarazo concluyó que la concentración de ferritina es un reflejo del hierro materno, y los niveles mayores de 44 pmol/L se asocian con resultados adversos (63). En nuestro estudio el 45% de las pacientes del grupo de preeclampsia presentaban valores >40 µg/L en contraste con el 20% del grupo control, coincidiendo con lo descrito previamente; en base a ello, podemos inferir que los niveles de ferritina por encima de 40ng/dL pueden relacionarse a eventos adversos perinatales como el desarrollo de preeclampsia con los riesgos inherentes de esta patología como son su evolución a eclampsia, síndrome de HELLP o nacimiento de productos pretérmino, entre otros.

Nuestros resultados muestran que los recién nacidos de pacientes con preeclampsia tenían diferencias estadísticamente significativas en el peso, talla y edad gestacional estimada (CAPURRO) en comparación con los recién nacidos de madres sanas. Además, aunque no hubo diferencia estadísticamente significativa en la puntuación de Apgar, hubo un mayor porcentaje de niños con puntuaciones de Apgar bajas en pacientes con preeclampsia al compararse con el grupo control. La mortalidad neonatal también fue mayor en el grupo de preeclampsia que en el grupo control y se asoció con niveles de ferritina maternas mayores de 40 ng/dL. En relación con la DMG, considerada la enfermedad metabólica más común en el embarazo (68), los resultados de estudios previos han sugerido que las concentraciones de ferritina sérica elevada pueden ser un factor de riesgo

para su desarrollo (68–71). En un estudio de casos y controles, los investigadores encontraron que los altos niveles de ferritina (mayor de 80 ng/dL) aumentaron el riesgo de DMG 2.4 veces (68). En el presente estudio, 4 pacientes (12,9%) fueron diagnosticados con DMG, todas ellas pertenecientes al grupo de preeclampsia. Tres de estas 4 pacientes tenían ferritina sérica >180ng/dL. Aunque no hubo correlación estadísticamente significativa entre los niveles de ferritina sérica y el diagnóstico de diabetes gestacional en este estudio, la glucosa de las pacientes en el grupo con preeclampsia fue mayor, comparativamente con las del grupo control ($p = 0.043$).

Una limitación de nuestro estudio es que el tamaño de la muestra es pequeño, por lo que es necesario desarrollar estudios más amplios que impliquen mediciones de ferritina sérica antes de que los pacientes desarrollen preeclampsia o DMG.

CAPITULO IX

CONCLUSIONES

En este estudio piloto, se encontró que los niveles de ferritina sérica elevada tuvieron correlación con una mayor incidencia de preeclampsia y DMG en mujeres embarazadas que reciben hierro profiláctico. La implementación de la cuantificación de ferritina sérica como prueba estándar al principio del embarazo en poblaciones con alto riesgo de desarrollar enfermedades hipertensivas durante el embarazo, como la mexicana, podría mejorar sustancialmente la calidad de la atención prenatal, lo que permite evaluar la administración de suplementos alimenticios, los cuales serán indicados sólo en aquellas mujeres con riesgo de presentar una deficiencia de hierro.

Se necesitan más estudios para determinar la dosis adecuada de hierro profiláctico durante el embarazo y evitar la sobrecarga de hierro, con las implicaciones que esto conlleva.

CAPITULO X

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Heart N. National High Blood Pressure Education Program Working Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* [Internet]. 2000;163:S1–S22. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002937800408203>
2. Sanchez-Rodriguez E, Nava-Salazar C, Romero-Arauz J, Cerbon-Cervantes M. Estado actual de la preeclampsia en México: de lo epidemiológico a sus mecanismos moleculares. *Rev. Investig. Clin.* 2010;62(3):252–60.
3. Turner JA. Diagnosis and management of pre-eclampsia: An update. *Int. J. Womens. Health.* 2010. p. 327–37.
4. Shamsi U, Hatcher J, Shamsi A, Zuberi N, Qadri Z, Saleem S. A multicentre matched case control study of risk factors for preeclampsia in healthy women in Pakistan. *BMC Womens. Health.* 2010;10:14.
5. Baker AM, Haeri S. Estimating risk factors for development of preeclampsia in teen mothers. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2012;286:1093–6.

6. Romero-Arauz J, Morales-Borrego E, Garcia-Espinosa M, Peralta-Pedrero M. Clinical guideline. Preeclampsia-eclampsia. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2012;50(5):560–79.
7. Perez-Cuevas R, Fraser W, Reyes H, Reinharz D, Daftari A, Heinz CS, et al. Critical pathways for the management of preeclampsia and severe preeclampsia in institutionalised health care settings. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2003;3:6.
8. Pennington KA, Schlitt JM, Jackson DL, Schulz LC, Schust DJ. Preeclampsia: multiple approaches for a multifactorial disease. *Dis. Model. Mech.* 2012. p. 9–18.
9. Fisher SJ. The placental problem: linking abnormal cytotrophoblast differentiation to the maternal symptoms of preeclampsia. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2004;2:53.
10. Maynard SE, Karumanchi SA. Angiogenic Factors and Preeclampsia. *Semin. Nephrol.* 2011;31(1):33–46.
11. Williams PJ, Broughton Pipkin F. The genetics of pre-eclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2011;25(4):405–17.
12. Wenzel K, Rajakumar A, Haase H, Geusens N, Hubner N, Schulz H, et al. Angiotensin II type 1 receptor antibodies and increased angiotensin II sensitivity in pregnant rats. *Hypertension.* 2011;58(1):77–84.

13. Casanueva E, Viteri FE. Iron and oxidative stress in pregnancy. *J. Nutr.* 2003;133:1700S–1708S.
14. Toy H, Camuzcuoglu H, Celik H, Erel O, Aksoy N. Assessment of serum paraoxonase and arylesterase activities in early pregnancy failure. *Swiss Med. Wkly.* [Internet]. 2009;139:76–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19204840>
15. Orhan H, Onderoglu L, Yücel A, Sahin G. Circulating biomarkers of oxidative stress in complicated pregnancies. *Arch. Gynecol. Obstet.* [Internet]. 2003;267:189–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12592416>
16. Finkel T. Oxygen radicals and signaling. *Curr. Opin. Cell Biol.* 1998;10:248–53.
17. Shao N, Kuang HY, Wang N, Gao XY, Hao M, Zou W, et al. Relationship between Oxidant/Antioxidant Markers and Severity of Microalbuminuria in the Early Stage of Nephropathy in Type 2 Diabetic Patients. *J. Diabetes Res.* 2013;2013:232404.
18. Aliev G, Obrenovich ME, Tabrez S, Jabir NR, Reddy VP, Li Y, et al. Link between cancer and Alzheimer disease via oxidative stress induced by nitric oxide-dependent mitochondrial DNA overproliferation and deletion. *Oxid. Med. Cell. Longev.* [Internet]. 2013;2013:962984. Available from:

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3649749&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

19. Cai Z, Yan L-J. Protein Oxidative Modifications: Beneficial Roles in Disease and Health. *J. Biochem. Pharmacol. Res.* [Internet]. 2013;1:15–26. Available from:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3646577&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
20. Matteo R, Proverbio T, Córdova K, Proverbio F, Marín R. Preeclampsia, lipid peroxidation, and calcium adenosine triphosphatase activity of red blood cell ghosts. *Am. J. Obstet. Gynecol.* [Internet]. 1998;178:402–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9500507>
21. Abad C, Teppa-Garrán A, Proverbio T, Piñero S, Proverbio F, Marín R. Effect of magnesium sulfate on the calcium-stimulated adenosine triphosphatase activity and lipid peroxidation of red blood cell membranes from preeclamptic women. *Biochem. Pharmacol.* [Internet]. 2005;70:1634–41. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16226223>
22. Mariano D, Cabrerizo S, Docampo PC. [Ferrous sulfate: acute poisoning with a frequent use drug]. *Sulfato ferroso intoxicacion grave con un Medicam. Empl. frecuente.* [Internet]. 2011;109:1–3. Available from:

<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=medl&NEWS=N&AN=21283930>

23. Calderon-Velez J. La suplementacion con hierro y el aumento del estres oxidativo en el embarazo: Una paradoja poco discutida. Rev. Colomb. Ostet. y Ginecol. 2007;58(4):304–8.
24. Milman N. Oral iron prophylaxis in pregnancy: not too little and not too much! J. Pregnancy [Internet]. 2012;2012:514345. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3409554&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
25. World Health Organization. Iron Deficiency Anaemia: Assessment, Prevention and Control, A guide for program managers. Control [Internet]. 2001;114. Available from: http://www.who.int/nutrition/publications/en/ida_assessment_prevention_control.pdf
26. Sanchez-Rodriguez E, Nava-Salazar S, Moran C, Romero-Arauz J, Carbon-Cervantes M. [The two leading hypothesis regarding the molecular mechanisms and etiology of preeclampsia, and the Mexican experience in the world context]. Rev. Investig. Clin. 2010;62(3):252–60.
27. Von Dadelszen P, Magee L. What matters in preeclampsia are the associated adverse outcomes: the view from Canada. Curr. Opin.

Obstet. Gynecol. [Internet]. 2008;20:110–5. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18388808>

28. Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gülmezoglu a. M, Van Look PF. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet*. 2006;367:1066–74.
29. Chandiramani M, Shennan A. Hypertensive Disorders of Pregnancy: a UK-based Perspective. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* [Internet]. 2008;20:96–101. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18388805>
30. SSA. Prevencion, diagnostico y manejo de la preeclampsia/eclampsia. Lineamiento Tec. 2007.
31. Baker AM, Haeri S. Estimating risk factors for development of preeclampsia in teen mothers. *Arch. Gynecol. Obstet.* [Internet]. 2012;286:1093–6. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22707291>
32. Viteri FE. A new concept in the control of iron deficiency: community-based preventive supplementation of at-risk groups by the weekly intake of iron supplements. *Biomed Env. Sci.* 1998;11:46–60.
33. Kim J, Kim YJ, Lee R, Moon JH, Jo I. Serum levels of zinc, calcium, and iron are associated with the risk of preeclampsia in pregnant

women. *Nutr. Res.* [Internet]. 2012;32:764–9. Available from:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2012.09.007>

34. Siddiqui IA, Jaleel A, Al Kadri HMF, Al Saeed W, Tamimi W. Iron status parameters in preeclamptic women. *Arch. Gynecol. Obstet.* [Internet]. 2011;284:587–91. Available from:
<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L51128812>
<http://dx.doi.org/10.1007/s00404-010-1728-2>
35. Taheripanah R, Farkush P. Relation between serum ferritin and iron parameters with preeclampsia. *J. Fam. Reprod. Heal.* 2007;1(2):87–91.
36. Cao C, O'Brien KO. Pregnancy and iron homeostasis: An update. *Nutr. Rev.* 2013;71:35–51.
37. Kaneshige E. Serum ferritin as an assessment of iron stores and other hematologic parameters during pregnancy. *Obstet. Gynecol.* 1981;57:238–42.
38. Scholl TO. Iron status during pregnancy: setting the stage for mother and infant. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005;81:1218S–1222S.
39. Goldenberg RL, Tamura T, DuBard M, Johnston KE, Copper RL, Neggers Y. Plasma ferritin and pregnancy outcome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1996;175:1356–9.

40. Scholl TO. High third-trimester ferritin concentration: associations with very preterm delivery, infection, and maternal nutritional status. *Obstet. Gynecol.* [Internet]. 1998;92:161–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9699743>
41. Gupta S, Nanda S, Singh U, Bansal S, Lal H. Evaluation of the changes in serum iron levels in pre-eclampsia. *Indian J. Clin. Biochem.* 1997;12(1):91–4.
42. Canzoneri BJ, Lewis DF, Groome L, Wang Y. Increased neutrophil numbers account for leukocytosis in women with preeclampsia. *Am. J. Perinatol.* [Internet]. 2009;26:729–32. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3062252&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
43. Deli R, Stefanovi M. Optimal laboratory panel for predicting preeclampsia. *J. Matern. Fetal. Neonatal Med.* [Internet]. 2010;23:96–102. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19658035>
44. Makuyana D, Mahomed K, Shukusho FD, Majoko F. Liver and kidney function tests in normal and pre-eclamptic gestation--a comparison with non-gestational reference values. *Cent Afr J Med* [Internet]. 2002;48:55–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12971159>

45. Hershkovitz R, Ohel I, Sheizaf B, Nathan I, Erez O, Sheiner E, et al. Erythropoietin concentration among patients with and without preeclampsia. *Arch. Gynecol. Obstet.* [Internet]. 2005;273:140–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16080010>
46. Freitas LG, Alpoim PN, Komatsuzaki F, Carvalho MDG, Dusse LMS. Preeclampsia: are platelet count and indices useful for its prognostic? *Hematology* [Internet]. 2013;18:360–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23676885>
47. Uysal P, Tuncel T, Olmez D, Babayigit A, Karaman O, Uzuner N. The role of mean platelet volume predicting acute exacerbations of cystic fibrosis in children. *Ann. Thorac. Med.* 6(4):227–30.
48. Bessman JD, Williams LJ, Gilmer PR. Mean platelet volume. The inverse relation of platelet size and count in normal subjects, and an artifact of other particles. *Am. J. Clin. Pathol.* [Internet]. 1981;76:289–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7282629>
49. Giles C. The platelet count and mean platelet volume. *Br. J. Haematol.* [Internet]. 1981;48:31–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7248189>
50. Walker JJ, Cameron AD, Bjornsson S, Singer CR, Fraser C. Can platelet volume predict progressive hypertensive disease in pregnancy?

Am. J. Obstet. Gynecol. [Internet]. 1989;161:676–9. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2782351>

51. Bessman JD, Williams LJ, Gilmer PR. Platelet size in health and hematologic disease. Am. J. Clin. Pathol. [Internet]. 1982;78:150–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6954850>
52. Ahmed Y, Iddekinge B. Retrospective analysis of platelet numbers and volumes in normal pregnancy and in pre-eclampsia. Br. J. Obstet. Gynaecol. [Internet]. 1993;100:230. Available from:
<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Citations+from+the+Literature#0\nhttp://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Citations+from+the+literature'#0\nhttp://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-0528.1993.tb15233.x/full>
53. Bath PM, Butterworth RJ. Platelet size: measurement, physiology and vascular disease. Blood Coagul. Fibrinolysis. 1996. p. 157–61.
54. Howarth S, Marshall LR, Barr AL, Evans S, Pontre M, Ryan N. Platelet indices during normal pregnancy and pre-eclampsia. Br. J. Biomed. Sci. [Internet]. 1999;56:20–2. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10492911>
55. Järemo P, Lindahl TL, Lenmarken C, Forsgren H. The use of platelet density and volume measurements to estimate the severity of pre-

- eclampsia. *Eur. J. Clin. Invest.* [Internet]. 2000;30:1113–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11122327>
56. Dundar O, Yoruk P, Tutuncu L, Erikci AA, Muhcu M, Ergur AR, et al. Longitudinal study of platelet size changes in gestation and predictive power of elevated MPV in development of pre-eclampsia. *Prenat. Diagn.* [Internet]. 2008;28:1052–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18973157>
57. Trudinger BJ. Platelets and intrauterine growth retardation in pre-eclampsia. *Br J Obs. Gynaecol.* 1976;83:284–6.
58. Redman C, Bonnar J, Beilin L. Early platelet consumption in pre-eclampsia. *Br. Med. J.* 1978;1:467–9.
59. Giles C, Inglis TC. Thrombocytopenia and macrothrombocytosis in gestational hypertension. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* [Internet]. 1981;88:1115–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=7295601
60. Redman C. Platelets and the beginnings of preeclampsia. *N. Engl. J. Med.* 1990;323(7):478–80.
61. Hutt R, Ogunniyi SO, Sullivan MH, Elder MG. Increased platelet volume and aggregation precede the onset of preeclampsia. *Obstet. Gynecol.* 1994;83:146–9.

62. Ceyhan T, Beyan C, Ba er I, Kaptan K, Güngör S, Ifran A. The effect of pre-eclampsia on complete blood count, platelet count and mean platelet volume. *Ann. Hematol.* [Internet]. 2006;85:320–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16518600>
63. Lao TT, Tam KF, Chan LY. Third trimester iron status and pregnancy outcome in non-anaemic women; pregnancy unfavourably affected by maternal iron excess. *Hum Reprod* [Internet]. 2000;15:1843–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10920115>
64. Paintin D, Thompson A, Hytten F. Iron and haemoglobin level in pregnancy. *J. Obstet. Gynecol.* 1996;73:181–90.
65. Scholl TO, Hediger ML, Fischer RL, Shearer JW. Anemia vs iron deficiency: increased risk of preterm delivery in a prospective study. *Am. J. Clin. Nutr.* 1992;55:985–8.
66. Goepel E, Ulmer HU, Neth RD. Premature labor contractions and the value of serum ferritin during pregnancy. *Gynecol. Obstet. Invest.* [Internet]. 1988;26:265–73. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L18274387>
67. Ulmer HU, Goepel E. Anemia, ferritin and preterm labor. *J. Perinat. Med.* [Internet]. 1988;16:459–65. Available from:

<http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L19075123>

68. Amiri FN, Basirat Z, Omidvar S, Sharbatdaran M, Tilaki KH, Pouramir M. Comparison of the serum iron, ferritin levels and total iron-binding capacity between pregnant women with and without gestational diabetes. *J. Nat. Sci. Biol. Med.* [Internet]. 2013;4:302–5. Available from:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3783769&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
69. Lao TT, Chan PL, Tam KF. Gestational diabetes mellitus in the last trimester - a feature of maternal iron excess? *Diabet. Med.* [Internet]. 2001;18:218–23. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11318843>
70. Tuomainen TP, Nyssönen K, Salonen R, Tervahauta A, Korpela H, Lakka T, et al. Body iron stores are associated with serum insulin and blood glucose concentrations. Population study in 1,013 eastern Finnish men. *Diabetes Care* [Internet]. 1997;20:426–8. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9051399>
71. Fernández-Real JM, Ricart-Engel W, Arroyo E, Balançá R, Casamitjana-Abella R, Cabrero D, et al. Serum ferritin as a component of the insulin resistance syndrome. *Diabetes Care* [Internet].

1998;21:62–8. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9580307>

CAPITULO XI

RESÚMEN AUTOBIOGRÁFICO

Oscar Rubén Treviño Montemayor

Candidato para el Grado de:

Especialista en Ginecología y Obstetricia

Tesis: Utilidad del hierro sérico como factor de riesgo en preeclampsia

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Biografía:

Datos Personales: Nacido en Monterrey, Nuevo León, el 29 de Abril de 1987,
hijo de Rubén Treviño Ramos y Maribel Montemayor Morales.

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Grado obtenido: Médico Cirujano y Partero en 2010.

CAPITULO XII

APÉNDICES

CONSENTIMIENTO PARA SER UNA SUJETO EN LA INVESTIGACIÓN

Este documento se presenta de conformidad con el artículo 100 Sección IV de la Ley General de Salud en vigor con la última modificación del mismo, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 28 de junio del 2005. El consentimiento informado por escrito debe ser obtenido de la sujeto en quien se llevará a cabo la investigación, o de su representante legal en el caso de incapacidad legal de la sujeto, una vez que hayan sido informados de los objetivos de la investigación y de las posibles consecuencias positivas o negativas que podría tener para su salud.

Esta forma de consentimiento describe el estudio de investigación y su papel como participante. Por favor lea este formulario cuidadosamente. No dude en hacer cualquier pregunta con respecto a la información proporcionada. Esto debería estimular sus preguntas. Su médico, enfermera, o una persona del equipo le describirá el estudio y responderá a sus preguntas.

1.- CONSENTIMIENTO INFORMADO

Utilidad del hierro sérico como factor de riesgo en preeclampsia

Se le pide participar en un estudio de investigación. Antes de dar su consentimiento para ser voluntario, es importante que lea la siguiente información y hacer tantas preguntas como sea necesario para asegurarse de que entiende lo que se le pide que haga.

2.- LOS INVESTIGADORES

Dr. Cesar Homero Gutiérrez Aguirre- Investigador principal – Servicio de Hematología – (5281)83488510

Dr. David Gómez Almaguer – Jefe del Servicio de Hematología - 83486136
Dr. José Luis Iglesias Benavides – Jefe del Servicio de Obstetricia – 83891111Ext. 2291
Dr. Oscar Rubén Treviño Montemayor – Residente de Ginecología y Obstetricia – 8112745841
Dr. Julio Alatorre Ricardo – Medico Pasante del Servicio Social en Investigación - 8116635259

3.- INTRODUCCIÓN

Las recomendaciones de administrar hierro a las mujeres embarazadas son claras y justificadas. Alrededor de un 30% de las mujeres embarazadas en América Latina tiene o desarrollará anemia o algún grado de deficiencia de hierro asociada al embarazo. En un estudio realizado en Venezuela, el 39,2% de las embarazadas tenía anemia por deficiencia de hierro y la suplementación con hierro se encontró como factor protector contra la anemia. Valores similares se reportaron en Argentina y México. La mayoría de los estudios mencionados utilizaron como criterio de anemia la hemoglobina menor de 11 g/dl (hematocrito menor de 33%), según las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

El Centro para el Control de Enfermedades de los Estados Unidos sugiere puntos de corte diferentes que tienen en cuenta la variabilidad de la hemoglobina según cada trimestre del embarazo. Debe aclararse que puede haber algún grado de deficiencia de hierro sin que esto implique siempre la presencia de anemia. Dicha deficiencia se presenta generalmente por no llenar los requerimientos diarios de hierro (durante el embarazo se deben absorber entre 4 y 7 mg/día de hierro, para lo cual la ingesta debe ser de al menos 20 mg/día, asumiendo una biodisponibilidad del 20%, valor que depende de las reservas corporales de hierro, del tipo de alimentos ingeridos e incluso de variaciones entre individuos), situación que se empeora cuando en la dieta hay inhibidores de la absorción de este, como carbonatos, fosfatos, grandes dosis de calcio o cuando hay comorbilidad, por ejemplo por sangrado o infestación parasitaria.

La deficiencia de hierro, sobre todo si se acompaña de anemia, se asocia a alteraciones cognitivas, de la fisiología tiroidea, del sistema inmune y a aumento de la morbilidad materno-fetal por menor ganancia de peso durante el embarazo, parto prematuro, bajo peso al nacer y muerte perinatal. De manera interesante, las pacientes con niveles de hemoglobina mayores de 13,2 g/dl también tendrían elevados riesgos materno fetales. La suplementación con hierro es una medida efectiva para evitar las complicaciones derivadas de su deficiencia en las mujeres embarazadas y es recomendada por la OMS.

Es conocido que en un embarazo normal los niveles séricos de los productos de la peroxidación lipídica se encuentran elevados, en comparación con los valores de las mujeres no embarazadas, fundamentalmente como consecuencia de la actividad mitocondrial y de la síntesis de hormonas que se da en la placenta, la cual tiene como fundamento la oxidación del ácido araquidónico. Los niveles de hidroperóxidos lipídicos en la sangre dan una idea de los fenómenos de oxidación y daño de lípidos producidos por especies químicas, como las especies reactivas de oxígeno (ROS, del acrónimo en inglés *reactive oxygen species*, término que agrupa a los radicales libres y otros compuestos no radicales libres, derivados de oxígeno, pero que se comportan como tales), a su vez producidas por la radiación, por reacciones químicas o incluso en forma espontánea y como producto normal del metabolismo celular.

También es conocido que en ciertas patologías del embarazo, como la diabetes gestacional y la preeclampsia, se encuentran aumentados los productos de la peroxidación lipídica, por encima de lo que normalmente se encuentran en las gestantes sanas. Niveles altos de ROS y de peroxidación lipídica, esta última medida como sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, parecen asociarse también a otras enfermedades como aterosclerosis, diabetes, enfermedad de Alzheimer y procesos no necesariamente patológicos como el envejecimiento y la fatiga muscular. Los aumentos de ROS y de la peroxidación lipídica se han relacionado por años con los procesos fisiopatológicos de la preeclampsia y la diabetes gestacional.

Una de las principales especies químicas involucradas en las reacciones de iniciación y propagación de los fenómenos de generación de ROS, y en los de peroxidación lipídica es el hierro en su forma ferrosa, justo la que se suministra a las embarazadas.

El cuerpo se defiende de la posible amenaza del exceso de hierro quelándolo por medio de proteínas; del mismo modo se defiende del estrés oxidativo aumentando su actividad antioxidante. No obstante, cualquier falla en los mecanismos de defensa antioxidantes del organismo durante el embarazo, puede traducirse en una elevación significativa del estrés oxidativo con las posibles consecuencias tanto para la madre como para el nuevo ser en formación.

Dentro de los exámenes de laboratorio solicitado a las mujeres en embarazo, durante su control prenatal, se encuentra el de hemoglobina, sin embargo, no se evalúan valores de ferritina (y en ciertas zonas del país no se realiza un hemograma

completo), y a pesar de cualquier valor de hemoglobina, en muchos casos se suministran cantidades relativamente grandes de hierro durante el embarazo. En las pacientes con preeclampsia se han reportado valores significativamente elevados de ferritina sérica, aun con valores de hemoglobina similares a los controles. En ocasiones el hierro se suministra con vitamina C, debido a que esta aumenta la absorción del primero, sin embargo, esta combinación también puede tener efectos prooxidantes, sobre todo si la forma de suministro de hierro es la ferrosa.

La Organización Mundial de la Salud recomienda la suplementación universal a las gestantes con 60 mg/día de hierro, cantidad que es sobrepasada en varias de las preparaciones comerciales que se encuentran disponibles en el mercado. Si una gestante ingiere 10 mg/día en su dieta y además se suplementa con 60 mg/día por 20 semanas (140 días), podría recibir casi 10 g de hierro durante todo el embarazo, pero como la biodisponibilidad es limitada, solo absorbería entre 1 y 2 g, con lo cual llenaría los requerimientos del embarazo, llenaría sus depósitos y se expondría a una gran cantidad de hierro en su sistema gastrointestinal, situación que podría favorecer el estrés oxidativo en este sistema y en el cuerpo en general.

4.- OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN

Este estudio está diseñado para demostrar la relación que existe entre la sobrecarga de hierro sérico por administración profiláctica durante el embarazo y el riesgo de preeclampsia o diabetes gestacional.

5.- PROCEDIMIENTOS

Si usted se ofrece como voluntario para participar en este estudio, se le realizara una sola toma de muestra sanguínea que se dividirá en 2 tubos, uno de 5 ml para realizar el conteo de células en la sangre (biometría hemática) y otro de 5 ml para cuantificar el hierro, ferritina, transferrina y glucosa (azúcar) en sangre, en total se le extraerán 10 ml de sangre equivalente a dos cucharaditas de sangre.

6.- ENTRE LOS POSIBLES RIESGOS O MOLESTIAS

No hay riesgos previsible asociados con el estudio.

Pudieran existir complicaciones como aparición de hematomas (acumulación de sangre debajo de la piel), formación de coágulos dentro de la vena e infección en el sitio del piquete.

7.- LOS BENEFICIOS POTENCIALES DE LA INVESTIGACIÓN/JUSTIFICACION

En la práctica médica es común ingresar pacientes gestantes a programas de control prenatal, así como evaluar resultados de biometría hemática y formular suplementos de hierro además de otros compuestos en estas pacientes, pensando únicamente en su efecto benéfico.

Sin embargo, los posibles riesgos de esta conducta raramente se toman en cuenta, básicamente porque en los centros de estudios médicos se tiene como axioma que estos no existen. La presente investigación pretende demostrar si existe relación del uso profiláctico de hierro oral o parenteral en mujeres embarazadas con el desarrollo de eventos fisiopatológicos de algunas complicaciones propias del embarazo, como es la preeclampsia y la diabetes gestacional.

8.- CONFIDENCIALIDAD Y ALMACENAMIENTO DE DATOS

Durante la investigación apuntaremos los resultados en un portafolio confidencial, se le asignara al paciente un numero con el cual lo identificaremos, se preservara siempre la confidencialidad y privacidad, con estos resultados podremos analizar si hay relación entre la sobrecarga de hierro sérico por administración profiláctica durante el embarazo y el riesgo de preeclampsia o diabetes gestacional.

Esta información será almacenada por un tiempo no mínimo de 3 años una vez finalizado el estudio.

9.- PARTICIPACIÓN EN EL RETIRO

Su participación en este estudio es voluntaria. Como participante, usted puede negarse a participar en cualquier momento. Para retirarse del estudio por favor contactar al Dr. Cesar Homero Gutiérrez Aguirre (Investigador Principal) .Nota: si los datos son anónimos, los sujetos no pueden retirar después de la obtención de los datos.

10.- LAS PREGUNTAS SOBRE LA INVESTIGACIÓN

Si usted tiene alguna pregunta acerca de la investigación, por favor hable con Dr. Cesar Homero Gutiérrez Aguirre (5281)83488510 Profesor del Servicio de Hematología

11.- EN EL CASO DE LESIÓN

Es poco probable que la participación en este proyecto dará como resultado un daño a los participantes. Si existe una lesión secundaria al el estudio, el sujeto

deberá notificar al Investigador Principal para que reciba la atención médica necesaria en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”. Estos gastos serán cubiertos por el Dr. Cesar Homero Gutiérrez Aguirre

12.- COSTOS:

Los costos los cubrirá el Servicio de Hematología.

13.- INCENTIVOS PARA PARTICIPAR

No se ofrece ningún incentivo.

14. GRABACIÓN DE AUDIO O VÍDEO (opcional)

No se utilizara audio o video.

15. LAS RAZONES PARA LA EXCLUSIÓN DE ESTE ESTUDIO

- a) Embarazadas con edad gestacional menor a 20 semanas.
- b) Pacientes que hayan recibido transfusión de paquete globular en los últimos 30 días.
- c) Pacientes con diagnostico de hemocromatosis y diabetes mellitus.
- d) Pacientes que no acepten firmar el Consentimiento Informado.

Este proyecto ha sido revisado y aprobado por el Comité de Ética y el Comité de Investigación de la Facultad de Medicina y del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio Gonzalez” de la Universidad de Autónoma de Nuevo León. Si usted cree que hay alguna violación a sus derechos como sujeto de investigación, puede comunicarse con el Presidente del Comité,

Dr. José Gerardo Garza Leal

Presidente del Comité de Ética

Teléfono de Contacto: 8329-4050 ext 2870-74

<i>Fecha</i>	<i>Firma del Segundo Testigo</i>	<i>Nombre en letra de molde</i>
--------------	----------------------------------	---------------------------------

<i>Relación del Segundo Testigo con la Sujeto del Estudio</i>	<i>Dirección</i>
---	------------------

II. ASEGURAMIENTO DEL INVESTIGADOR O DEL MIEMBRO DEL EQUIPO

He discutido lo anterior con esta persona. A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de una manera informada, y él/ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar este consentimiento.

<i>Fecha</i>	<i>Firma de la Persona que Obtuvo el Consentimiento/Investigador Principal</i>	<i>Nombre en letra de molde</i>
--------------	--	---------------------------------