

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
IZTACALA

“ESTUDIO DE LOS POLIMORFISMOS A313G DE  
LA GLUTATIÓ-N-S TRANSFERASA P1 Y C98T DE  
LA GLICOPROTEÍNA PLAQUETARIA IIIA EN  
PACIENTES MAYAS CON PREECLAMPSIA”

TESIS PROFESIONAL  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

PRESENTA:

ELVIA GUADALUPE LIMAS MARTÍNEZ

DIRECTORA DE TESIS: DRA. HAYDEÉ ROSAS VARGAS



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **DEDICATORIA**

*A mis padres José Limas Pérez y Carmen Martínez Matías, gracias por sus enseñanzas y valores, por estar al pendiente de mí, por sus consejos, su comprensión, confianza y paciencia, por el amor que me han dado, pero sobre todo por aguantarme. Los quiero mucho.*

*Gracias papá y mamá por su apoyo incondicional por todos estos años, por su sacrificios y consejos a lo largo de mi vida.*

*A mi abuelo por sus enseñanzas por todos los consejos que me dio, por que siempre esta presente y se que estaría muy orgulloso.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi directora de tesis Haydeé Rosas Vargas por permitirme trabajar en este proyecto bajo sus enseñanzas, por su paciencia, por ser una gran persona, mi admiración y respeto.

Dr. Ramón Mauricio Coral Vázquez por ser un ejemplo a seguir no solo por su calidad como investigador sino por su grandeza como ser humano.

A mis hermanos: *Toño, Ana, Mari, Liz* por el amor y el apoyo que me han brindado cada quien a su manera, en especial a: *Ana* por sus consejos, incansable paciencia, amistad, cariño y su gran apoyo, por estar a mi lado cuando te necesito; *Liz* por tu apoyo, fortaleza y valor, sobre todo por tu cariño. *Los quiero mucho.*

A mis sobrinos: Isabel, Alberto y Monse por llenar mi vida de alegría con sus risas, abrazos y besos.

A mi mami por todo el cariño que me ha brindado y todos los momentos compartidos por todo el apoyo recibido gracias má por estar conmigo.

A mi mamá *Trini* por mostrarme siempre su cariño.

A todos mis tíos: *Sabina, Trinidad, Rafael, Rosa Elba , Perla Araceli, Miguel Angel, Graciela, Elvira, Silvia* que siempre me han ayudado y apoyado en todo cuanto han podido gracias.

A mi cuñado *Francisco* por su apoyo.

A toda mi familia por escucharme motivarme y darme siempre un buen consejo gracias.

A ti Migue por los momentos compartidos, tu apoyo, tu paciencia comprensión, tolerancia y la ayuda incondicional. Gracias Ángel.

A mis sinodales Dr. Diego Arenas Aranda, M. en C. Ramón Víctor Moreno Torres, M. en C. Elías Piedra Ibarra, M. en C. Irma Elena Dueñas García, por su paciencia y valiosas críticas en la elaboración de esta tesis muchas gracias por el tiempo dedicado. Gracias Dr. Diego y profesor Ramón por sus enseñanzas brindadas a lo largo de la carrera.

A mis compañeros de laboratorio por hacer agradable las horas de trabajo.

A mis compañeros de carrera por el apoyo y los momentos agradables a lo largo de la carrera.

A la UNAM por abirme las puertas y permitir llegar hasta este momento.

## ÍNDICE

ABREVIATURAS USADAS :	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
RESUMEN	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
1. INTRODUCCIÓN	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
1.1 PREECLAMPSIA	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
1.1.1 FACTORES DE RIESGO	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
1.1.2 PATOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
1.1.3 ETIOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
1.2 GLICOPROTEÍNA PLAQUETARIA IIIA	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
1.2.1 MECANISMO DE ACCIÓN DE LA GPIIIA	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
1.2.2 POLIMORFISMO DEL GEN ITGB3 Y SU ASOCIACIÓN CON PATOLOGÍAS	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
1.3 GLUTATIÓ-N-S-TRANSFERASA PI	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
1.3.1 MECANISMO DE ACCIÓN DE LA GSTPI	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
1.3.2 POLIMORFISMOS DEL GEN GSTP1 Y SU ASOCIACIÓN CON PATOLOGÍAS	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DE</b>
4. METODOLOGÍA	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
4.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
4.1.1 EXTRACCIÓN DE ADN GENÓMICO	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
4.1.2 PCR TIEMPO REAL	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
4.1.2.1 GENOTIPIFICACIÓN	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
4.1.2.2 DISCRIMINACIÓN ALÉLICA	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
4.1.5 SECUENCIACIÓN	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
4.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
6. DISCUSIÓN	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
7. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
8. BIBLIOGRAFÍA	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>

## RESUMEN

La preeclampsia es uno de los desórdenes más serios del embarazo que a nivel mundial afecta al 5 % de las mujeres en estado de gravidez. En México ocupa el 4.7 % siendo la principal causa de muerte materna. La existencia de factores genéticos queda en evidencia ya que la presencia de antecedentes familiares con esta patología está asociada a un mayor riesgo. Algunos estudios anteriores han mostrado asociación de los polimorfismos Glicoproteína Plaquetaria IIIa (GPIIIa) C98T y Glutación S-Transferasa PI (GSTPI) A313G con la preeclampsia, aún cuando su importancia siga siendo controversial. En el presente trabajo se determinaron las frecuencias de los polimorfismos C98T de la GPIIIa Y A313G de la GST PI en un grupo de pacientes de población indígena maya con preeclampsia y se compararon con un grupo control para determinar si éstos constituyen factores de riesgo de preeclampsia en mujeres embarazadas indígenas mayas. Adicionalmente se analizó la frecuencia de ambos polimorfismos en poblaciones abiertas de mayas y mestizos para comparar las frecuencias entre ambas poblaciones. El análisis de los polimorfismos GPIIIa C98T y GST PI A313G se realizó por discriminación alélica en PCR tiempo real utilizando sondas específicas para cada alelo marcadas con fluorocromos distintos para cada uno de ellos. Las poblaciones analizadas se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg. El análisis estadístico de  $X^2$  no mostró



diferencias significativas entre las frecuencias genotípicas y alélicas para ambos polimorfismos entre la población con preeclampsia y el grupo control. Se compararon las frecuencias de estos mismos polimorfismos en poblaciones normotensas de mayas y mestizos y así como con las frecuencias reportadas en otras poblaciones. Las poblaciones maya y mestiza no difirieron entre sí, pero sí se encontraron diferencias significativas con poblaciones africana, europea, brasileña y taiwanesa. En conclusión, tomando como referencia los polimorfismos C98T GPIIIa y A313G GST PI son diferentes a otras poblaciones muy probablemente debido a nuestro origen ancestral y posterior mestizaje, y el que no se haya encontrado asociación entre tales polimorfismos con desarrollo el de preeclampsia en población Maya-Yucateca encuentre explicación en el transfondo genético de las poblaciones derivado de los factores antes mencionados.

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1 PREECLAMPSIA**

La preeclampsia (PE) es una enfermedad exclusiva de la gestación humana que se caracteriza por el aumento de la presión arterial y proteinuria durante la segunda mitad de la gestación. Se presenta en todas las poblaciones con una incidencia general que varía entre el 5% y 7%; sin embargo, las diferencias geográficas, socioeconómicas y raciales hacen que la incidencia en algunas áreas sea hasta tres veces mayor (López-Jaramillo *et al.*, 2001). En México, es la complicación más frecuente del embarazo (Velasco-Vitelio, 1998; Estrada-Altamirano *et al.*, 2002), con una incidencia de 47.3 por cada 1 000 nacimientos y es además, la primera causa de ingreso de pacientes embarazadas a las unidades de terapia intensiva (debido a hemorragia masiva, para recibir soporte hemodinámico) (Estrada-Altamirano *et al.*, 2002). Según la Secretaría de Salud (2001) la mortalidad por complicaciones del embarazo ocupa el 15º lugar en la mortalidad hospitalaria en general.

El diagnóstico actual de PE se basa en criterios clínicos y de laboratorio. Según el reporte de la *National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy* (2000), la PE se define por la presencia de presión arterial sistólica  $\geq$  a 140 mm Hg ó presión arterial diastólica  $\geq$  a 90 mm Hg asociada a proteinuria, esta última considerada como una excreción  $\geq$  0.3 g de proteínas en orina de 24 horas, que equivale a un valor  $\geq$  30 mg/dl en una muestra al azar, generalmente se observa edema

generalizado. Estos hallazgos pueden ser detectados a partir de la semana 20 de gestación en una mujer previamente sana.

La PE se considera principalmente como un trastorno endotelial que resulta de una perfusión deficiente de la placenta que libera factores que lesionan el endotelio por activar la cascada de coagulación o aumentar la sensibilidad del endotelio a agentes prores (Tierney *et al.*, 2003; Wilson y Goodwin, 2003). No obstante, la PE se ha definido comúnmente como la enfermedad de las múltiples teorías, dado que ninguna de ellas ha podido explicar en la totalidad su origen y desarrollo. Hay algunos hallazgos comunes y constantes en las pacientes que desarrollan PE, tales como invasión superficial del citotrofoblasto endovascular en las arterias espirales, una exagerada respuesta inflamatoria y una inapropiada activación de las células endoteliales (Dekker, 1999), sin embargo los mecanismos detrás de estos hallazgos son desconocidos.

#### 1.1.1 FACTORES DE RIESGO

Existen diversos factores de riesgo para el desarrollo de PE entre los cuales se encuentran los siguientes:

- Relacionados con el cónyuge: Cónyuge que haya sido padre de un embarazo con PE con otra mujer (Dekker, 1999; Esplin *et al.*, 2001). Cónyuge hijo de madre con PE (Esplin *et al.*, 2001; Roberts *et al.*, 2003).

- Los factores asociados al embarazo: Historia previa de PE (Wilson y Goodwin, 2003; Burrow, 1996; Esplin *et al.*, 2001; Roberts *et al.*, 2003). Edad materna (menores de 15 años y mayores de 40 años; el riesgo de PE en un segundo embarazo aumenta 1.3 veces por cada 5

años que aumenta la edad materna, en intervalos entre embarazos es de 1.12) (Skjerven *et al.*, 2002), embarazos gemelares, anomalías congénitas estructurales, hidropesía fetal, anomalías cromosómicas (trisomía 13, triploidía), mola hidatidiforme, (Dekker, 1999; Haddad, 2002). Se ha sugerido como factores de riesgo para presentar esta entidad como el incremento de triglicéridos y colesterol LDL, la disminución del colesterol HDL, hiperhomocisteinemia, infecciones del tracto genitourinario y mala adaptación inmune (Dekker, 1999; Roberts, 2001).

- Factores asociados a enfermedades subyacentes: Antecedentes familiares de hipertensión crónica y enfermedad renal, obesidad, resistencia a la insulina, bajo peso al nacer, diabetes gestacional, diabetes mellitus tipo 1, resistencia a la proteína C activada, deficiencia de proteína S, anticuerpos antifosfolípidos, esferocitosis (Myers y Baker, 2002; Dekker, 1999; Roberts *et al.*, 2003; Pridjian y Puschett, 2002).

- Factores exógenos: Fumar (disminuye el riesgo), estrés (incluido laboral), exposición en útero a dietilestilbestrol (Dekker, 1999; Haddad, 2002)

### 1.1.2 PATOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA

Para explicar el desarrollo de la PE se ha propuesto el modelo de dos etapas (Haddad, 2002; Roberts *et al.*, 2003):

- La primera etapa comprende la alteración de la perfusión placentaria. La característica de la placenta que conduce a PE es la perfusión reducida, debida a las anomalías en la implantación y remodelación vascular. En embarazo normal, las arterias espirales de la placenta experimentan una remodelación notable, en la que se observan los vasos perceptiblemente dilatados que han perdido su músculo liso y capas elásticas de lámina interna. Esta modificación extensa no ocurre en PE, lo cual da lugar a una perfusión placentaria reducida (Roberts *et al.*, 2003).
- La segunda etapa comprende la disfunción endotelial o síndrome materno. La disfunción endotelial ha sido identificada como la vía final en la patogénesis de la PE (Myers y Baker, 2002; Wilson *et al.*, 2003; Dekker, 1999), pero no parece ser causada por la hipertensión (Roberts *et al.*, 2003), sino por daño tóxico. La invasión deficiente del trofoblasto hacia las arterias espirales es responsable de la mal adaptada circulación útero/placentaria (Myers y Baker, 2002; Wilson *et al.*, 2003; Haddad, 2002; Roberts *et al.*, 2003)

La invasión del trofoblasto y la subsecuente remodelación de las arterias espirales resultan en diámetros de las arterias espirales de sólo 40% respecto a los hallados en embarazos normales (Wilson *et al.*, 2003), normalmente, las arterias espirales son remodeladas por el trofoblasto mediante invasión de sus paredes causando pérdida de la capa muscular y la lámina elástica interna (estas y otras

anormalidades de la placentación parecen ser características derivadas de genes paternos) (Haddad, 2002; Roberts *et al.*, 2003; Wilson *et al.*, 2003; Esplin *et al.*, 2001). Esto convierte al sistema placentario normal de alto flujo y baja resistencia en un sistema de bajo flujo y alta resistencia que resulta en isquemia placentaria, que se cree es el desencadenante de este cuadro clínico, a través de sustancias liberadas por el útero o la placenta isquémica que afecta la función endotelial, ya sea por liberación de sustancias vasoconstrictoras o inhibición de las influencias vasodilatadoras (Haddad, 2002), (Cotran y Collins, 2000). Las células endoteliales activadas o dañadas por radicales libres de oxígeno, peroxidación de lípidos, quimiotaxis de células inflamatorias y agentes vasopresores (desequilibrio prostaciclina/tromboxano A<sub>2</sub>) causan vasoconstricción y promueven la trombosis y fibrosis, la coagulación vascular diseminada, la hipertensión y la lesión de múltiples órganos (Cotran y Collins, 2000). El estrés oxidativo se ha propuesto como la liga entre las dos etapas del modelo de dos etapas de la PE.

Se ha demostrado que más de 160 sustancias aumentan durante la PE (Myers y Baker, 2002). De éstas se han estudiado virtualmente todas las sustancias que tienen relación con la función endotelial y vascular, aunque las más estudiadas son la leptina, P-selectina, factor activador de plaquetas, angiotensinógeno, angiotensina II, óxido nítrico, endotelinas, prostaglandinas, péptido atrial natriurético factor V de Leiden, metilentetrahidrofolato reductasa y epóxido hidroxilasa (Wilson *et al.*, 2003). La neurocinina B, el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), productos de peroxidación de lípidos y membranas de sincitiotrofoblastos también presentan un incremento considerable. La neurocinina B expresada por la placenta es un potente vasoconstrictor venoso, cuya expresión está destinada a incrementar el flujo sanguíneo hacia la placenta.

### 1.1.3 ETIOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA

Debido a que no se conoce el origen de la PE se han postulado cuatro principales hipótesis: Mala adaptación inmunológica, isquemia placentaria, estrés oxidativo y susceptibilidad genética (Myers y Baker, 2002; Wilson *et al.*, 2003; Dekker, 1999; Burrow *et al.*, 1996).

#### Mala adaptación inmunológica

Entre los fenómenos inmunológicos que ocurren en la PE se encuentran la producción de anticuerpos contra células endoteliales, aumento de complejos inmunes circulantes, activación del complemento, depósito de complejos inmunes y complemento en arterias espirales, placenta, hígado, riñón y piel. Se ha postulado que la actividad de las células inmunes de la decidua puede liberar mediadores que actúan sobre las células endoteliales como el TNF $\alpha$  e IL-1 (Wilson *et al.*, 2003).

#### Isquemia placentaria

Se debe a la falta de relajación (dilatación) de las arterias espirales. La exportación incrementada de membranas de microvellosidades del sincitiotrofoblasto (STBM) en mujeres preeclámpicas dañan al endotelio e inhiben su proliferación (Wilson *et al.*, 2003). La isquemia placentaria además causa un estrés oxidativo importante sobre el endotelio vascular. Los argumentos que apoyan la placentación anormal y la consecuente isquemia como el evento desencadenante de la PE se fundamentan en que la

hipertensión en el embarazo es más común en pacientes con gestaciones multiplacentarias, durante embarazos molares (trofoblasto excesivo), en pacientes con embarazo abdominal, y es aliviado con la expulsión de la placenta. La placentación anormal debida a fallo de trofoblasto también tiene una gran implicación, incluidas mutaciones específicas, como en los genes que codifican para metaloproteinasas que degradan matriz extracelular (Myers y Baker 2002; Wilson *et al.*, 2003; Dekker, 1999).

### Estrés oxidativo

Hay muchas sustancias y mediadores capaces de generar radicales libres de oxígeno y otras sustancias capaces de dañar al endotelio. En la PE hay una fuerte interacción entre agentes oxidantes aunada a deficiencia de alguno de los mecanismos encargados de hacer frente a este estrés. Hay alteraciones en enzimas como la superóxido dismutasa, óxido nítrico sintetasa, homocisteína, alteraciones que condicionan hiperhomocisteinemia, epóxido hidroxilasa, etc. La homocisteína elevada causa generación excesiva de peróxido de hidrógeno, inhibe la detoxificación mediada por óxido nítrico, mantiene la actividad del factor V, incrementa la activación de protrombina e inhibe la expresión de trombomodulina (Dekker, 1999). Todo esto, aunado a anomalías en la expresión del Factor V de Leiden y el daño endotelial son factores protrombóticos que acentúan el daño tisular. Además, la dislipidemia marcada durante la PE debida también a alteraciones genéticas, a la disminución de la capacidad de la albúmina para prevenir la toxicidad por ácidos grasos libres y copar radicales libres aunado a daño tisular, llevan a la acumulación de lipoproteínas de bajo peso molecular (LDL) en el subendotelio (Wilson *et al.*, 2003).



## Susceptibilidad Genética

Por medio de la compilación de estudios realizados en distintos países (Chelsey, 1978) se puso de manifiesto que la PE puede ocurrir en diversas condiciones ambientales, lo cual llevó a postular que estos padecimientos podrían ser ocasionados no únicamente por factores ambientales, sino que también existen factores predisponentes de otro tipo, entre ellos los genéticos. Estudios en familias han determinado que las familiares en primer grado de consanguinidad de una mujer con PE tienen 4 a 5 veces mayor riesgo de presentar la enfermedad. Igualmente las familiares en segundo grado tienen un riesgo incrementado de 2 a 3 veces, comparado con aquellas mujeres en cuyas familias no hay historia de PE. El modelo más sencillo de herencia que explica mejor la frecuencia de la PE en poblaciones de bajo riesgo (3-6%) es la presencia de homocigocidad entre la madre y el feto para genes recesivos. También es muy probable la teoría de impronta genómica como la explicación sobre el modo de herencia de la PE (Dekker, 1999).

A la fecha se han descrito múltiples alteraciones genéticas ligadas a la presencia de PE, en las cuales están involucrados al menos 26 genes diferentes. Los genes que participan en la PE pueden ser agrupados de acuerdo al papel que juegan en la etiología de la PE de acuerdo a las hipótesis mencionadas; se pueden clasificar en aquellos que regulan la placentación, reguladores de la presión arterial, genes involucrados en la isquemia placentaria y genes que intervienen en el daño/remodelación del endotelio vascular (Dekker, 1999).

Actualmente son varios los trabajos que se han enfocado a estudiar la posible asociación entre PE y mutaciones o polimorfismos en genes relacionados con hipertensión y trombofilia. Estos incluyen los genes para la metilentetrahidrofolato reductasa (Sodha *et al.*, 1997), enzima convertidora de angiotensina (Zhou *et al.*, 1999; Heiskanen, *et al.* 2001), angiotensinógeno (Bashfor, *et al.*, 2001), sintasa endotelial de oxido nítrico (Bashford *et al.*, 2001), glutatión-s-transferasa P1 (Zusterzeel, *et al.*, 2000) y glicoproteína plaquetaria IIIa (O'Shaughnessy *et al.*, 2001). A pesar de que existen diversos estudios vinculantes, la gran mayoría de los datos obtenidos hasta el momento no son concluyentes.

## 1.2 GLICOPROTEÍNA PLAQUETARIA IIIA

Uno de los genes involucrados asociados a PE es el ITGB3 que codifica para la glicoproteína plaquetaria IIIa (GPIIIa), una subunidad (beta 3) de la subfamilia de integrinas que participan en agregación plaquetaria, en la placentación (Hynes *et al.*, 1999; Thirkill, 1999), y también han sido involucradas en la falla del citotrofoblasto para adquirir un fenotipo vascular en PE (Zhou *et al.*, 1997). Se encuentran en la superficie celular y son el principal recurso que tienen las células para interactuar con la matriz extracelular o entre las mismas células (Butcher, 1991; Springer, 1994).

Las integrinas son receptores proteínicos que consisten en dos subunidades, una glicoproteína transmembranal  $\alpha$  y otra  $\beta$  que forman un complejo no covalente. Cada subunidad contiene un gran dominio extracelular y otro pequeño citoplasmático. Ambas subunidades contienen centros activos y contribuyen a la unión. Actualmente se conocen 16 tipos de subunidades  $\alpha$  y 8 de tipo  $\beta$ , la combinación de las cuales genera las 22 integrinas conocidas. Las

integrinas están ampliamente distribuidas e interaccionan con todas las proteínas clave de la matriz extracelular (colágeno, fibronectina, fibrinógeno, laminina, vitronectina, etc...) que constituyen sus ligandos (Cox, 1995).

Las reacciones de adhesión constituyen funciones celulares de gran importancia para llevar a cabo ciertos procesos fisiológicos tales como la migración celular, la proliferación, la diferenciación, y la activación celular. (Hynes, 1992; Ruoslahti, 1991). Así, la adhesión celular interviene en procesos como el desarrollo embrionario (Yamada, 1995) o la agregación plaquetaria (Ojima *et al.*, 1995) y está implicada en procesos patológicos, como son la inflamación (Zimmerman, 1999) y la metástasis (Kerr *et al.*, 2000).

#### 1.2.1 MECANISMO DE ACCIÓN DE LA GPIIIA

Ante la ruptura vascular quedan libres estructuras que en condiciones normales están ocultas, quedando visible la capa basal que contiene colágeno que en condiciones normales se encuentra oculta; ésta induce la agregación y las plaquetas se adhieren al colágeno libre.

El factor de Von Willebrand (VWP), que se encuentra tanto en la matriz extracelular como en el plasma, puede ser liberado por las plaquetas y las células endoteliales. Cuando éstas son lesionadas, el VWP se expresa en el lugar dañado, lo cual produce una mayor adherencia de las plaquetas al interaccionar con un complejo formado por la glicoproteína GP Ib-IX-V que se expresa en la superficie plaquetaria (Ruggeri, 1993). La adhesión de las plaquetas al vaso dañado requiere la activación de una segunda glicoproteína, el complejo del receptor GPIIb-IIIa que se expresa en la superficie de

las plaquetas activadas. Esta glicoproteína (principal integrina conocida) está implicada no solamente en el proceso de adhesión de la plaqueta a la pared del vaso, sino también en el de la agregación plaquetaria, que es la interacción plaqueta-plaqueta. Diferentes activadores plaquetarios inducen la exposición del GPIIb-IIIa en la superficie plaquetaria y mediante el fibrinógeno que actuaría como puente de unión entre dos glicoproteínas de diferentes plaquetas, lográndose así la agregación plaquetaria. Este complejo funciona como receptor, solo después de la activación de la plaqueta, y es un receptor para fibrinógeno, fibronectina, Von Willebrand, vitronectina y trombospondina (Coller, 1995) (Fig. 1).

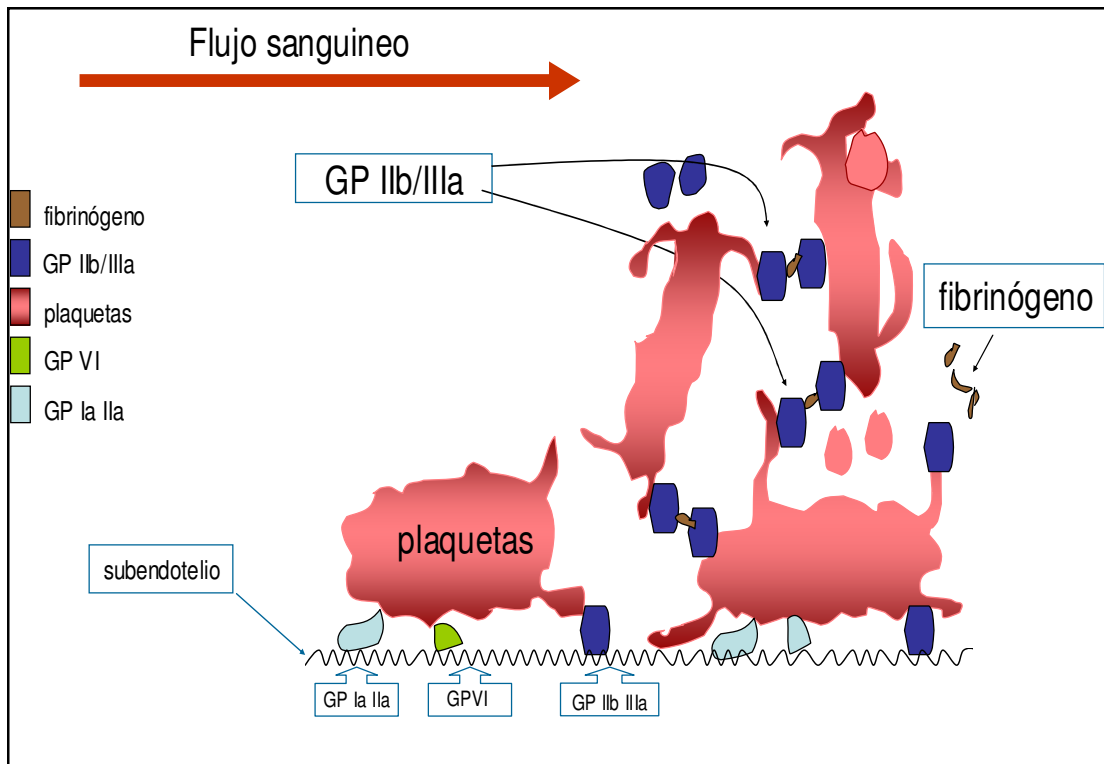


Fig. 1 Mecanismo de acción de la GPIIIa. Ante la ruptura vascular queda visible la capa basal que contiene colágeno, ésta induce la agregación y las plaquetas se adhieren al colágeno libre. En la superficie plaquetaria aparecen receptores complejos glicoproteínicos: complejo I Ib-IIIa, este receptor se une al fibrinógeno (proteína circulante) y éste sirve para que se unan complejos de glicoproteínas de la superficie de otras plaquetas originando puentes interplaquetarios produciéndose agregación plaquetaria.

### 1.2.2 POLIMORFISMO DEL GEN ITGB3 Y SU ASOCIACIÓN CON PATOLOGÍAS

El gen ITGB3 se encuentra en el locus 17q21-q23. Contiene 14 exones (Sosnoski *et al.*, 1998) que codifican para una proteína de 788 aa con un peso molecular de 87.2 kDa. En el exón 2 se localiza un polimorfismo causado por una substitución C98T del gen como consecuencia hay un cambio de aminoácidos Leu33Pro y la existencia de dos formas antigénicas distintas de la GPIIIa en plaquetas (P1 [A] 1 y 2) (Carter *et al.*, 1998) (Fig 2). Estudios epidemiológicos de este polimorfismo han demostrado que esta variante es un factor de riesgo para trombosis arterial y que la presencia del alelo T98 es un factor de predisposición a infartos del miocardio en pacientes jóvenes (Weiss *et al.*, 1996), e incrementa y estabiliza la interacción de GPIIb/IIIa con fibrinógeno inmovilizado, (Goodall *et al.*, 1999; Vijayan *et al.*, 2000) y realza la agregabilidad plaquetaria (Feng, 1999), así como la generación de la trombina. (Pontiggia, 2002).

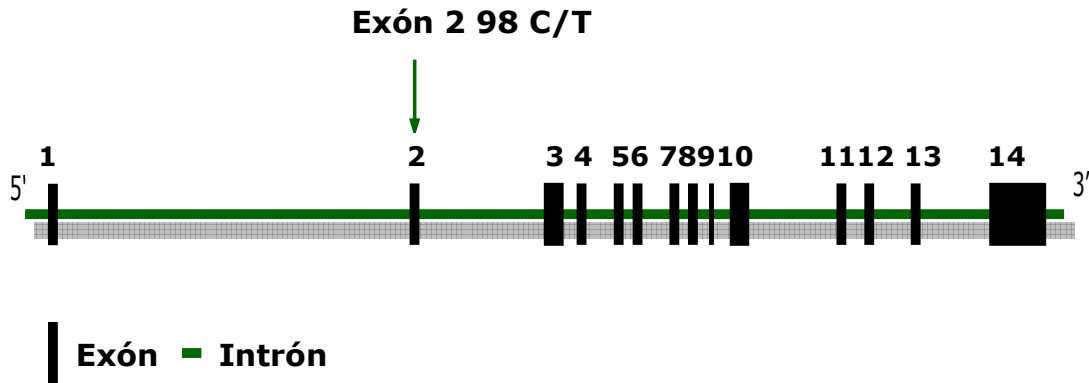


Fig. 2 Representación esquemática del gen ITGB3. El gen ITGB3 es codificado por 14 exones, el polimorfismo causa una sustitución C98T en el exón 2 que da como resultado un cambio de aminoácidos Leu33Pro.

### 1.3 GLUTATIÓN-S-TRANSFERASA PI

Las glutatión S transferasas (GSTs) son diméricas, principalmente citosólicas, las enzimas tienen características obligatorias del ligando extenso además de su papel catalítico en la desintoxicación (Listowsky *et al.*, 1988; Ketley *et al.*, 1976; Barycki, y Colman, 1997). También han estado implicadas en una variedad de fenómenos de resistencia que involucran a agentes quimioterapéuticos del cáncer (Tew, 1994; McLellan y Wolf, 1999), los insecticidas (Tang y Tu, 1994; Ranson *et al.*, 1997), los herbicidas (Edwards, *et al.*, 2000; Dixon *et al.*, 1998) y los antibióticos microbianos (Arca *et al.*, 1997).

Las GSTs humanas se pueden subdividir en cuatro clases importantes de enzimas (alpha (*a*), mu (*M*), pi (*P*), y theta (*T*), basadas en una amplia variedad de criterios, incluyendo secuencia

amino de la proteína, características estructurales inmunológicas, cinéticas y propiedades de la estructura terciaria y cuaternaria( Sheehan *et al.*, 2001) cada clase consiste en una o más isoenzimas con una amplia variedad de especificidades sobre sustrato (Beckett y Hayes, 1993 ; Hayes y Pulford, 1995).

La Glutati6n-s-Transferasa P1 (GST P1) es la isoforma principal de GSTs presente en tejido placentario y membrana en forma normal, en mujeres con PE se encuentran niveles mas bajos comparados con embarazos normales sugiriendo que los niveles reducidos de GST P1 en PE puedan indicar una baja capacidad del sistema de la desintoxicaci6n, dando por resultado un desequilibrio entre los per6xidos del l6pido y los radicales libres del ox6geno en las sustancias de la desintoxicaci6n y por lo tanto una susceptibilidad m6s alta al PE (Zusterzeel *et al.*, 1999; Hubel *et al.*, 1989; Loverro *et al.*, 1996).

### 1.3.1 MECANISMO DE ACCI6N DE LA GSTPI

Las c6lulas poseen un arsenal impresionante de enzimas capaces de biotransformar una amplia gama de sustancias qu6micas y una de sus funciones es la desintoxicaci6n enzim6tica de los xenobi6ticos que ha sido clasificada en tres fases distintas que act6an de una manera integrada. Las fases I y II implican la conversi6n de un xenobi6tico lipof6lico, no polar en un metabolito m6s soluble en agua y por lo tanto menos t6xico, el cual puede entonces ser eliminado m6s f6cilmente de la c6lula en la fase III. El metabolismo de xenobi6ticos y de toxinas end6genas requiere normalmente la modificaci6n de la fase I por enzimas tales como el citocromo P-450, responsable de una amplia gama de reacciones, de las cuales la oxidaci6n parece ser la m6s importante (Guengerich,



1990), seguido por las reacciones de conjugación de la fase II, catalizadas especialmente por la Glutación-S-Transferasa (EC 2.5.1.18). Los intermediarios del citocromo P-450 formados son a menudo compuestos altamente reactivos que pueden dañar los componentes celulares si no son conjugados rápidamente en la fase II de la reacción (González y Gelboin 1996) a un sustrato soluble en agua endógeno, tal como glutatión reducido (GSH), ácido UDP-glucurónico o glicina. Cuantitativamente, la conjugación a GSH a través de las GSTs, puede catalizar la adición nucleofílica del glutatión a los centros electrofílicos de una amplia gama de sustancias, las sustituciones aromáticas nucleofílicas, (Salinas y Wong, 1999) y a la reducción de hidroperóxidos, dando por resultado la formación del glutatión oxidado (GSSG) (Salinas y Wong, 1999; Hayes y McLellan, 1999) (Fig. 3). Existen varios mecanismos de transporte para la eliminación de conjugados de glutatión, incluyendo una bomba de ATP-dependiente de GS-X (Ishikawa, 1992), y un anión orgánico multi-específico transportador (MOAT) (Heijn, 1992).

### 1.3.2 POLIMORFISMOS DEL GEN GSTP1 Y SU ASOCIACIÓN CON PATOLOGÍAS

El gen GSTP1 está situado en el cromosoma 11q13 contiene 7 exones y seis intrones los cuales se encuentran en un rango de 4261 pb y codifican para un transcrito de 2.8 kb y (Board *et al.*, 1989; Moscow *et al.*, 1989)

Se han identificado tres polimorfismos del gen GST PI: la transición en la posición 313 A/G resulta en un cambio Ile105Val, la transición en la posición 341 C/T en el exon 6 da como resultado el cambio Ala113Val y una transición silenciosa de C/T en la posición 555 fue observada en hGSTP1\*B y hGSTP1\*C. Esta transición no altera el aminoácido codificado (Serina) en el codón afectado 185. (Ali-Osman-Osman *et al.*, 1997).

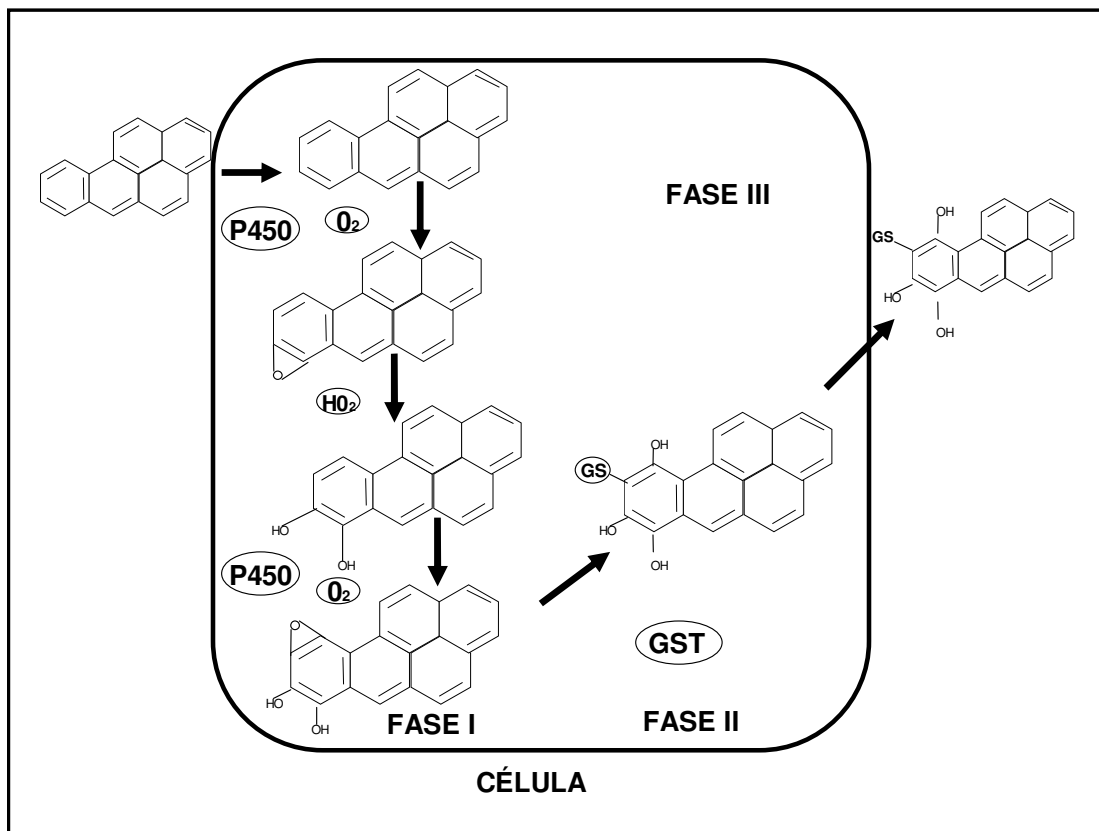


Fig. 3 Mecanismo de la GST P1. La biotransformación de xenobióticos ocurre básicamente a través de dos fases. La fase I que es la biotransformación cuyo principal objetivo es aumentar la reactividad química de la estructura molecular de los xenobióticos con la finalidad de facilitar la reacción de estos con los agentes de conjugación que constituyen la Fase II. En la fase II de la biotransformación la GSH S-transferasa participa, ligando su grupo -SH y neutralizando los sitios electrofílicos de los xenobióticos o sus metabolitos, llevando además a la formación de compuestos más solubles, el cual puede entonces ser eliminado más fácilmente de la célula en la fase III.

Los estudios han demostrado que los polimorfismos de la región de codificación y las diversas isoformas GST P1 exhiben diferencias en

características de la especificidad del sustrato y de la estabilidad termal, posiblemente conduciendo a la alteración funcional de diversas actividades catalíticas que confieren (Ali-Osman-Osman *et al.*, 1997; Harries *et al.*, 1997; Zimniak *et al.*, 1994). Existe evidencia molecular concluyente que el polimorfismo A313G en el gen GSTP1 (Fig. 4) da lugar a proteínas activas que son funcionalmente diferentes (Ali-Osman-Osman *et al.*, 1997).

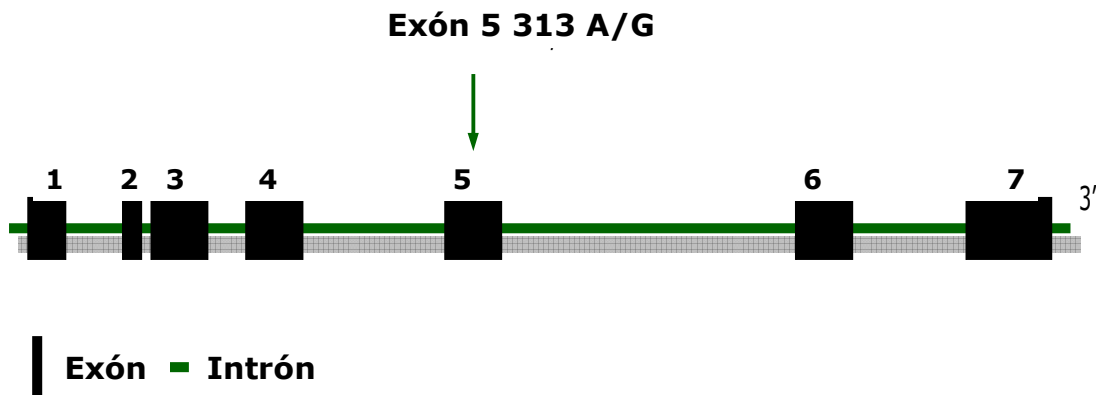


Fig. 4. Representación esquemática del gen GSTP1. El gen GSTP1 contiene 7 exones, el polimorfismo causa un cambio de bases A/G en la posición 313 del exón 5 resultando en un cambio de aminoácidos Ile105Val.

Aproximadamente 5% de la población blanca tiene el fenotipo 313G mientras que un 42% tiene el 313A. (Watson *et al.*, 1998). La presencia del alelo menos funcional 313G (Watson *et al.*, 1998) es asociada con una baja capacidad de desintoxicación, elevando la susceptibilidad materna a PE (Zusterzel *et al.*, 2000). La variabilidad

genética en este gen puede por lo tanto contribuir a las diferencias individuales en susceptibilidad a PE (Zusterzel *et al.*, 2000). Puesto que la placenta es de origen fetal y se caracteriza por la contribución maternal y paternal, el riesgo de PE se puede modificar por variaciones genéticas en actividades de desintoxicación tanto maternas como fetales.

El equilibrio de Hardy-Weinberg es un modelo teórico para genética de poblaciones. Las frecuencias genotípicas se puede predecir a partir de las frecuencias alélicas por uno de los enunciados más importantes en la genética de poblaciones: la Ley Hardy-Weinberg. La ley sostiene que las proporciones genotípicas permanecerán iguales en generaciones sucesivas de una reproducción sexual de una población si se encuentran los siguientes criterios: que el apareamiento sea al azar; que no ocurran mutaciones; que la población es grande (por lo tanto esos cambios al azar en frecuencia genética son insignificantes); que no ocurra selección natural y que no ocurran migraciones (Smith, 1996).

Hay varias maneras de determinar si una población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg para un determinado locus, sin embargo, cuando se dispone de una única muestra de una población, que representa una única generación se pueden comparar las frecuencias genotípicas observadas, con las frecuencias genotípicas esperadas (las frecuencias genotípicas esperadas  $p^2 + 2pq + q^2$  se obtienen a partir de las frecuencias alélicas denominadas  $p$  y  $q$ ) utilizando la prueba estadística de  $X^2$  para determinar si las frecuencias observadas difieren en forma significativa de las esperadas, o sí las diferencias son tan pequeñas que pueden ser atribuidas al azar (Tamarin, 1996).

Desviaciones en la frecuencia genotípica del equilibrio de la ley Hardy-Weinberg sugieren la presencia de presión selectiva en la población. Una implicación importante de esta ley es que en ausencia de fuerzas evolutivas específicas o selectivas, la herencia mendeliana sola es suficiente para mantener la variabilidad genética en una población (Smith, 1996).

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN**

La PE es la principal causa de muerte materna, por lo que es considerada un problema de salud pública de importancia prioritaria. No se conoce su etiología, sin embargo, investigaciones realizadas coinciden en que su origen se relaciona con la interacción entre factores genéticos y ambientales. Diversos estudios de asociación han identificado algunos genes de susceptibilidad a la PE, pero los resultados no se han replicado consistentemente en todas las poblaciones, quizá por su complejidad clínica.

En México nuestras poblaciones tienen un acervo genético distinto, determinado por el mestizaje que se dió entre las distintas etnias mexicanas con los españoles y algunos grupos negros, lo que justifica efectuar la búsqueda de diferentes polimorfismos involucrados con PE. Por esta razón y aunado a que en México no existen estudios al respecto, y dada la escasez de datos en el estado de Yucatán, en donde la PE es muy frecuente, el presente trabajo se enfoca a estudiar en población maya polimorfismos GPIIIa y GST PI, que son genes candidatos cuyas variantes se relacionan con una mayor susceptibilidad a la enfermedad. En este sentido, hay muchas expectativas con respecto a los genes localizados en tales regiones candidatas, debido a que la identificación de los factores de riesgo genético podría ayudar al entendimiento de esta condición y en proveer claves para su prevención y tratamiento.

### **3. OBJETIVOS**

#### *Objetivo General*

Estudiar los polimorfismos GSTPI A313G y GPIIIa C98T en población mestiza y maya, así como determinar su relación con la preeclampsia en una población maya.

#### *Objetivos Particulares*

- Crear un banco de ADN de población indígena maya.
- Crear un banco de ADN de población abierta mestiza.
- Analizar el polimorfismo A313G en el gen de la Glutación-S Transferasa PI en población abierta de mayas y mestizos.
- Analizar el polimorfismo C98T en el gen de la Glicoproteína Plaquetaria IIIa en población abierta de mayas y mestizos.
- Analizar el polimorfismo A313G en el gen de la Glutación-S Transferasa PI en pacientes mayas con preeclampsia y determinar su posible asociación con la enfermedad.
- Analizar el polimorfismo C98T en el gen de la Glicoproteína Plaquetaria IIIa en pacientes mayas con preeclampsia y determinar su posible asociación con la enfermedad.



## 5. RESULTADOS

Se analizó la frecuencia de los alelos del polimorfismo Leu33Pro de la GP IIIa a partir de muestras de ADN de 64 pacientes con PE y 167 de controles con embarazo. Para población abierta se analizaron 49 muestras de población maya y 100 muestras de mestizos. A partir de estas muestras de ADN se amplificó mediante PCR Tiempo Real la región del polimorfismo. En la figura 6 se muestra la gráfica de la amplificación por PCR Tiempo Real de muestras distintas: un individuo homocigoto silvestre (FAM) y un heterocigoto (VIC y FAM). Los datos obtenidos se sometieron a un análisis automatizado de discriminación alélica (Fig. 7). Se corroboró la secuencia de las sondas en la muestra de un homocigoto silvestre y un heterocigoto para verificar la identidad y el marcaje de la sonda (Figs. 8 y 9).

Todas las poblaciones analizadas se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg.

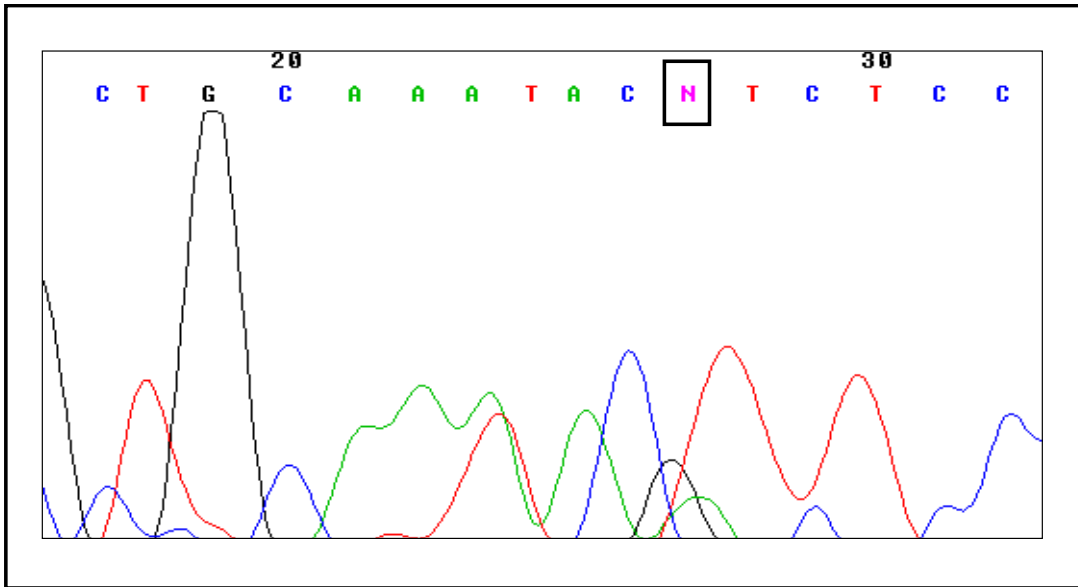


Fig 8. Electroferograma de la secuenciación del fragmento polimórfico A313G del gen GST P1. En la figura se observa la secuencia de un individuo heterocigoto en el que la base donde se encuentra el polimorfismo es marcada con "N" ya que contiene la base silvestre y mutante.

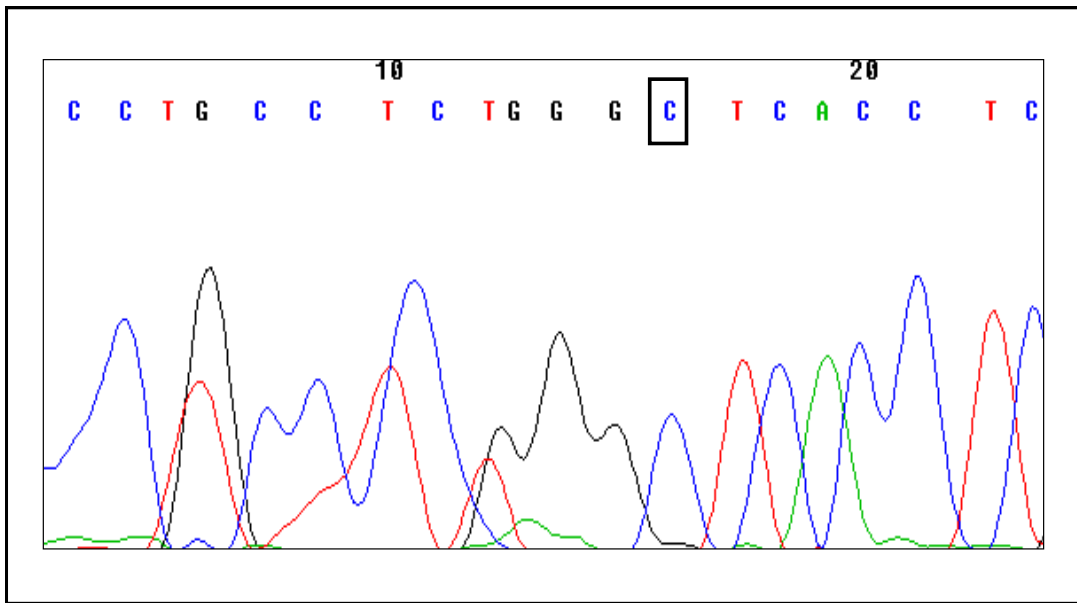


Fig 9. Electroferograma de la secuenciación del fragmento polimórfico C98T del gen GP IIIa. En la figura se observa la secuencia de un individuo heterocigoto en el que la base donde se encuentra el polimorfismo es marcada con "C" ya que contiene la base silvestre.

La frecuencia genotípica del polimorfismo C98T GPIIIA fue de 87.50% para TT, 12.50 % para TC y 0.0 % para CC en el grupo con PE, con una frecuencia alélica de 93.7 % para T y 6.25 % para C. En el grupo control los resultados muestran una distribución de 94.0 % para TT, 6.0 % para TC y 0.0 % para CC, con frecuencias alélicas de 97.0 % para T y 3.0 % para C (Tabla 2). De acuerdo con los

resultados de la prueba de chi-cuadrada la distribución tanto genotípica ( $X^2 = 2.73$ ; 1 gl  $p \leq 0.10$ ) como alélica ( $X^2 = 2.62$ ; 1 gl  $p \leq 0.20$ ) no difiere significativamente entre las poblaciones con PE y control. La distribución del polimorfismo C98T del gen GPIIIa en población abierta Maya fue de 90.0 % para TT, CT 10.0 % y 0.0 % para CC, mientras que los alelos mostraron una frecuencia de 94.90 % para el alelo T y 5.10 % para el alelo C En la población Mestiza los resultados muestran una distribución de 92.0 % para TT, TC 8.0% y 0.0% para CC, con frecuencia alélica de 96% para el alelo T y 4 % para el alelo C (Tabla 3). De acuerdo con los resultados de la prueba de chi-cuadrada la distribución tanto genotípica ( $X^2 = 0.20$ ; 1 gl  $p < 0.05$ ) como alélica ( $X^2 = 0.19$ ; 1 gl  $p < 0.05$ ) no difiere significativamente entre las poblaciones con PE y control.

**Tabla 2. Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo C98T de gen de la Glicoproteína Plaquetaria IIIa en población maya con preeclampsia y controles**

Población	Frecuencias Genotípicas						Frecuencias Alélicas					
	TT		T/C		C/C		Total	T		C		Total
	n	%	n	%	n	%		n	%	n	%	
Maya												
Preeclampsia	56	(87.5)	8	(12.5)	0	(0.0)	64	120	(93.75)	8	(6.25)	128
Controles	157	(94.)	10	(5.9)	0	(0.0)	167	324	(97.0)	10	(3.0)	334

**Tabla 3 Frecuencias genotípicas y alélicas de polimorfismo C98T de gen de la Glicoproteína Plaquetaria IIIa en población abierta mayas y mestizos**

Población	Frecuencias Genotípicas						Frecuencias alélicas					
	TT		CT		CC		Total	T		C		Total
	N	%	n	%	n	%		n	%	n	%	
Maya	44	(90.00)	5	(10.00)	0	(0.00)	49	93	(94.9)	5	(5.10)	98
Mestiza	92	(92.00)	8	(8.00)	0	(0.00)	100	192	(96.0)	8	(4.00)	200

Los resultados de las frecuencias alélicas del polimorfismo C98T GPIIIa obtenidos a partir de las poblaciones abiertas maya y mestiza se compararon por la prueba de chi cuadrada contra las frecuencias de otras poblaciones descritas en otros estudios (Tabla 4). Los resultados obtenidos mostraron que la población mestiza y maya difieren significativamente mostrando una disminución en la frecuencia del alelo 98T con respecto a las poblaciones Afroamericana, Europea y Africana (Craig *et al.*, 1999; O'Shaughnessy, *et al.*, 2001; Pegagoro, *et al.*, 2003). La prueba de  $\chi^2$  poblaciones muestran los valores siguientes respectivamente, mayas vs: afroamericana  $\chi^2= 9.25$  1 gl  $P \leq 0.01$  europea  $\chi^2=8.44$  1 gl  $P \leq 0.01$  y africana  $\chi^2 = 9.02$  1 gl  $P \leq 0.01$ .) afroamericana  $\chi^2= 9.25$  1 gl  $P \leq 0.01$  europea  $\chi^2=13.99$  1 gl  $P \leq 0.001$  y africana  $\chi^2 = 14.74$  1 gl  $P \leq 0.001$ .

**Tabla 4. Frecuencias alélicas de polimorfismo C98T de gen de la GpIIIa en diferentes poblaciones**

Población	N	C	T	
Maya	49	0.95	0.05*	Presente Estudio
Mestiza	100	0.96	0.04*	Presente Estudio
Afroamericanos	185	0.88	0.12	Craig <i>et al.</i> , 1999
Europea	200	0.86	0.14	O'Shaughnessy <i>et al.</i> , 2001
Africana	216	0.86	0.14	Pegagoro <i>et al.</i> , 2003

\*Diferencias significativas respecto a la población afroamericana, europea, africana ( $p < 0.05$ ).

Para el polimorfismo A313G del gen de la GST PI se analizó la frecuencia de los alelos a partir de de ADN de 63 muestras de pacientes con PE y 144 controles con embarazo. Para población abierta se analizaron 99 muestras de población Maya y 66 de Mestizos.

La distribución genotípica del polimorfismo A313G del gen de la GST PI fue de 26.98 % para AA, 50.79 % para AG y 22.22 % para GG en el grupo de PE, con frecuencias alélicas de 52.38 % para A y 47.61 % para G. En el grupo control se observó una distribución de 18.75 % para AA, 68.05 % para AG y 13.19 % para GG, con frecuencia alélica de 52.88 % para A y 47.22 % para G (Tabla 5). De acuerdo con los resultados de la prueba de  $X^2$  la distribución tanto genotípica ( $X^2=5.71$ ; 1 gl  $p\leq.10$ ) como alélica ( $X^2= 0.0055$ ; 1 gl  $p\leq 0.20$ ) no difiere significativamente entre las poblaciones con PE y control.

**Tabla 5 Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo A33G del gen de la GST PI en población maya con preeclampsia y controles**

Población	Frecuencias Genotípicas						Frecuencias alélicas					
	AA		AG		GG		Total	A		G		Total
Población	n	%	n	%	n	%	Total	n	%	n	%	Total
Maya	17	(26.98)	32	(50.79)	14	(22.22)	63	66	(52.38)	60	(47.61)	126
Preeclampsia	17	(26.98)	32	(50.79)	14	(22.22)	63	66	(52.38)	60	(47.61)	126
Controles	27	(18.75)	98	(68.05)	19	(13.19)	144	152	(52.88)	136	(47.22)	288

La distribución del polimorfismo A313G del gen de la GST PI en población abierta Maya fue de 12.10 % para AA, 53.00 % para AG y

34.90 % para GG, mientras que los alelos mostraron una frecuencia de 38.63 % para A y 61.37% para G. En la población Mestiza los resultados muestran una distribución de 13.10 % para AA, 52.50 % para AG y 34.40% para GG, con frecuencia alélica de 39.40 % para A y 60.60 % para el alelo G (Tabla 6). De acuerdo con los resultados de la prueba de  $X^2$  la distribución tanto genotípica ( $X^2 = 0.036$ ; 1 gl  $p < 0.05$ ) como alélica ( $X^2 = 0.019$ ; 1 gl  $p \leq 0.20$ ) no difiere significativamente entre las poblaciones PE y control.

**Tabla 6 Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo A313G del gen de la GST PI en población abierta maya y mestiza**

Població	Frecuencias Genotípicas				Frecuencias Alélicas							
	AA		AG		GG		A		G			
n	n	%	n	%	n	%	Total	n	%	n	%	Total
Mestizos	13	(13.1)	52	(52.5)	34	(34.4)	99	78	(39.4)	120	(60.6)	198
Mayas	8	(12.1)	35	(53.0)	23	(34.9)	66	51	(38.6)	81	(61.4)	132

Los resultados de las frecuencias alélicas del polimorfismo A3131G de la GST PI obtenidos a partir de las poblaciones abiertas maya y mestiza se compararon por la prueba de chi cuadrada contra las frecuencias de otras poblaciones descritas en otros estudios (Tabla 7). Los resultados obtenidos mostraron que la población mestiza y



maya difieren significativamente mostrando un incremento en el alelo G con respecto a las poblaciones brasileña, taiwanesa, afroamericana, europea-americana y holandesa, las poblaciones muestran los valores siguientes respectivamente, mayas vs: brasileños  $X^2= 33.36$  1 gl  $P \leq 0.001$ , taiwaneses  $X^2= 72.07$  1 gl  $P \leq 0.001$ , afro americanos  $X^2= 13.41$  1 gl  $P \leq 0.001$ , euro americanos  $X^2= 36.74$ , 1 gl  $P \leq 0.001$ , holandeses  $X^2= 59.67$  1 gl  $P \leq 0.001$ ; mestizos vs: brasileños  $X^2= 40.13$  1 gl  $P \leq 0.001$ , taiwaneses  $X^2= 84.06$  1 gl  $P \leq 0.001$ , afroamericanos  $X^2= 15.96$  1 gl  $P \leq 0.001$ , euroamericanos  $X^2= 46.98$  1 gl  $P \leq 0.001$ , holandesa  $X^2= 34.05$  1 gl  $P \leq 0.001$ . (Rossini *et al.*, 2002; Watson *et al.*, 1988; Zusterzeel *et al.*, 2003).

**Tabla 7 Frecuencias alélicas del polimorfismo A313G de la GSTPI en diferentes poblaciones**

Población	Total	A	G	
Mestizos	99	0.40	0.60*	Presente estudio
Mayas	66	0.39	0.61*	Presente estudio
Brasileños	132	0.69	0.31	Rossini <i>et al.</i> , 2002
Taiwanesa	116	0.82	0.18	Watson <i>et al.</i> , 1988
Africana-Americana	137	0.58	0.42	Watson <i>et al.</i> , 1988
Europea-Americana	287	0.67	0.33	Watson <i>et al.</i> , 1988
Holandesa	317	0.78	0.22	Zusterzeel <i>et al.</i> , 2003

\*Diferencia significativa con respecto a las poblaciones brasileña, taiwanesa, afroamericana, europea-americana, y holandesa ( $p < 0.05$ ).

## 6. DISCUSIÓN

En este trabajo se analizó la frecuencia de los alelos de los polimorfismos GPIIIa C98T y GST PI A313G en pacientes mayas con y sin preeclampsia. Así mismo se analizó la frecuencia de los alelos de ambos polimorfismos en poblaciones mexicanas sanas maya y mestiza, asumiendo que las poblaciones se encuentran en equilibrio de Hardy Weinberg.

Los estudios epidemiológicos demuestran que la PE tiene características hereditarias. Muchos autores coinciden en que el origen de la PE está relacionado con la interacción entre factores tanto genéticos como ambientales (Morgan y Ward, 1999; Dekker y Sibai, 1998; Pridjian y Puschett, 2002). Sin embargo, los resultados no han sido replicados consistentemente en algunos de estos trabajos al estudiar diferentes poblaciones y genes aislados; esto se debe a la complejidad clínica y genética características de tal enfermedad.

El polimorfismo C98T de la GPIIIa ha sido asociado con el desarrollo de preeclampsia en mujeres anglosajonas (O'Shaughnessy *et al.*, 2001), pero el resultado no pudo ser replicado en mujeres sudafricanas con la enfermedad (Pegoraro *et al.*, 2003). En el presente estudio tampoco se encontró asociación entre el

polimorfismo C98T de la GPIIIa y el riesgo de desarrollar PE en población maya.

Los resultados observados en las poblaciones sanas: Maya y Mestiza no muestran diferencias significativas entre sí en la distribución genotípica y las frecuencias alélicas del polimorfismo GPIIIa C98T. Sin embargo, al ser comparadas con otras poblaciones se observan diferencias significativas. La variante alélica 98T muestra un decremento en la frecuencia al ser comparada con población afroamericana, europea y africana ( $p < 0.05$ ) (Craig *et al.*, 1999; O'Shaughnessy *et al.*, 2001; Pegagoro, *et al.* 2003).

La presencia del alelo 313G de la GST PI (Watson, *et al.*, 1998) ha sido asociado a PE en población holandesa (Zusterzel *et al.*, 2000). En el presente estudio no se encontró asociación entre el polimorfismo 313G y el riesgo de desarrollar PE en población maya.

En las poblaciones sanas: Maya y Mestiza, los resultados observados no muestran diferencias significativas entre sí en la distribución genotípica y las frecuencias alélicas del polimorfismo GSTPI A313G. Al ser comparadas con otras poblaciones se observan diferencias significativas. El alelo 313G muestra un incremento en la frecuencia al ser comparado con poblaciones: brasileña, taiwanesa,

afroamericana, europea-americana, y holandesa (Rossini *et al.*, 2002; Watson *et al.*, 1988; Zusterzeel *et al.*, 2003).

Los datos anteriores para ambos polimorfismos (GSTPI A313G y GPIIIa C98T) en poblaciones sanas de mayas y mestizos, indican que posiblemente el mestizaje no influye sobre la frecuencia con que se presentan los alelos y que estas frecuencias pueden estar relacionadas con el origen distinto de las poblaciones maya y mestiza con respecto de las poblaciones brasileña, taiwanesa, africana, afroamericana, europea, europea-americana, y holandesa. Esto podría ser confirmado con el estudio de otras poblaciones en nuestro país y así observar el comportamiento de la frecuencia de los alelos.

Se considera específicamente que la PE es una enfermedad genéticamente compleja porque no sigue un patrón de herencia mendeliano y porque, además de presentar variabilidad fenotípica (expresividad variable, penetrancia incompleta y fenocopias), presenta variabilidad genotípica (heterogeneidad genética, pleiotropismo y epistasis) (Pridjian y Puschett, 2002; Altmüller *et al.*, 2001; Haines y Pericak, 1998; Strachan y Read, 1999). La heterogeneidad genética que caracteriza a las enfermedades complejas, las hace más difíciles en su abordaje por la diversidad de genes relacionados con su origen. Esto explica, en parte, el porqué de las limitaciones para replicar un estudio de asociación a un gen

candidato; en este sentido, un gen que predisponga a PE en una población, puede no estar alterado en otra, y esto no significa que no esté asociado con la enfermedad, sino que en la segunda población pueden ser otros los genes que presentan las alteraciones. Además, la interacción entre los productos de los genes, complica aún más su estudio, generando modificaciones que exigen considerar siempre la influencia de otros genes asociados, adicionales al que se está estudiando.

El estudio de los factores genéticos involucrados en el origen de la PE podría contribuir al esclarecimiento de su etiología, la cual, hasta el momento, no ha sido bien determinada. Considerando el lugar que ocupa la PE en la morbilidad materna y perinatal, sería ideal conocer a fondo los factores etiológicos y fisiopatológicos que la determinan para así poder hacer un abordaje integral, con el que se identifiquen exactamente los riesgos, se controlen específicamente las manifestaciones y se prevengan eficazmente las complicaciones. Adicional al conocimiento detallado del papel que cumplen los factores genéticos, sería fundamental también conocer qué tanto riesgo confieren los antecedentes familiares de PE, para así justificar un control prenatal cuidadoso con el que se puedan prevenir las complicaciones de una manera más eficiente.

## **7. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS**

- Los polimorfismos C98T de la Glicoproteína Plaquetaria IIIa Y A313G de la Glutación-S-Transferasa P1 no se encontraron asociados con PE en población indígena maya.

- La frecuencia del alelo T98 de la Glicoproteína Plaquetaria IIIa tanto en mayas como en mestizos es significativamente más baja que en las poblaciones Europea, Africana y Afroamericana.

- La frecuencia del alelo G313 de la Glutación-S-Transferasa P1 tanto en mayas como en mestizos es significativamente más alta que en las poblaciones Brasileña, Taiwanesa, Afroamericana, Europea-americana, y Holandesa.

Debido a que la PE es una enfermedad multifactorial de etiología desconocida, donde influyen en ella tanto factores genéticos como ambientales, es importante tomar en cuenta que las diferentes poblaciones tienen un acervo genético distinto y están sometidos a diferentes condiciones ambientales, lo cual explica el por qué la frecuencia de un polimorfismo puede diferir entre poblaciones así como tener diferentes efectos como factor de riesgo de una enfermedad.

Se requiere seguir ahondando en este campo que permita acercarnos aún más a la complejidad genética de la enfermedad, y considerar mejor la gran influencia de la heterogeneidad sobre la diversidad de resultados.

## **8. BIBLIOGRAFÍA**

Ali-Osman, F., Akande, O., Antoun, G., Mao, J.-X., Buolamwini, J. (1997). Molecular cloning, characterization, and expression in *Escherichia coli* of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants: evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins. *J. Biol. Chem.* 272, 10004-10012.

Altmüller, J., Palmer, L. J., Fischer, G., Scherb, H., Wjst M. (2001). Genomewide scans of complex human diseases: True linkage is hard to find. *Am. J. Hum. Genet.* 69, 936-50.

Arca, P., Hardisson, C. and Suarez, J. E. (1997). Purification of a glutathione S-transferase that mediates fosfomycin resistance in bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 34, 844-848.

Atallah, A. N., Hofmeyr, G. J., Duley L. (2004). Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems. *Cochrane Library* number 4, CD001059.

Bashford, M. T., Hefler, L.A., Vertreesb, T. W., Roa BB and Gregg AR. (2001). Angiotensinogen and endothelial nitric oxide synthase gene



polymorphisms among Hispanic patients with preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 184, 1345-51.

Barrilleaux, P. S., Martin, J. N. (2002). Hypertensión Therapy During Pregnancy. *Clin. Obstet. Gynecol.* 45:1, 22-34.

Barycki, J. J. and Colman, R. F. (1997). Identification of the nonsubstrate steroid binding site of the rat liver glutathione S-transferase, isoenzyme 1-1, by the steroid affinity label, 3 $\beta$ -(iodoacetoxy) dehydroisoandrosterone. *Arch. Biochem. Biophys.* 345, 16-31.

Beckett, G. J., Hayes, J. D. (1993). Glutathione S-transferases: Biomedical applications. *Adv. Clin. Chem.* 30, 282-380.

Board, P. G., Webb, G. C., Coggan, M. (1989). Isolation of a cDNA clone and localization of the human glutathione S-transferase 3 genes to chromosome bands 11q13 and 12q13-14. *Ann. Hum. Genet.* 53, 205-213.

Burrow, G. M. (1996). Complicaciones médicas durante el embarazo. 4<sup>a</sup> ed, México, McGraw-Hill panamericana. 1-25.

Butcher, E. C. (1991) Leukocyte-endothelial cell recognition: Three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell*. 67, 1033-1036.

Carter, A. M., Catto, A. J., Bamford, J. M., Grant, P. J. (1998): Platelet GP IIIa Variable number tandem repeat polymorphisms and markers of platelet activation in acute stroke. *Arterioscler. Thromb. Vase. Biol.* 18, 1124-31.

Castillo, G. L. A. (2000). Conceptos actuales de preeclampsia-eclampsia. *Rev. Hosp. Jua. Mex.* 67:3, 127-133.

Chesley, L. C. (1978). Eclampsia: the remote prognosis. *Semin. Perinatol.* 2, 99-111.

Coller, B. S. (1995). The role of platelets in arterial thrombosis and the rationale for blockade of platelet GP IIb-IIIa receptors as antithrombotic therapy. *Eur. Heart, J.* 16, 1-15.

Costa, J. (2004). Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 22(5):299-305

Cotran., Kumar., Collins. (2000). *Patología estructural y funcional*. 6ª ed, México, McGraw-Hill interamericana, 1127-30.

Cox, D. (1995). *Drug News and Perspectives* 8 (4), 197-205

Dekker, G. A. (1999). Risk factors for Preeclampsia. *Clin. Obstet and Gynecol.* 42:3, 422-35.

Dekker, G. A., Sibai, B. (2001). Primary, secondary and tertiary prevention of pre-eclampsia. *Lancet.* 357, 209-15.

Dekker, G.A., Sibai, B. M. (1998). Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 179, 1359-75.

Dixon, D. P., Cummins, I., Cole, D. J. and Edwards, R. (1998). Glutathione-mediated detoxification systems in plants. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 1, 258-266.

Edwards, R., Dixon, D. P. and Walbot, V. (2000) Plant glutathione S-transferases: Enzymes with multiple functions in sickness and health. *Trends. Plant. Sci.* 5, 193-198.

Esplin, M. S., Fausett, M. B., Frase, R. A. et al. (2001). Paternal and maternal Components of the Predisposition to Preeclampsia. *N. Engl. J. Med.* 344:12, 867-72.

Estrada-Altamirano, A., Hernández-Pacheco, J. A., Cisneros-Castolo, M. y García-Benítez, C.Q. (2002). Experiencia de la Unidad de Cuidados Intensivos Obstétricos del Instituto Nacional de Perinatología, 1993-1998. *Perinatol. Reprod. Hum.* 16:2, 88-95.

Feng, D., Lindpaintner, K., Larson, M. G., Rao, V. S., O'Donnell, C. J., Lipinska, I., Schmitz, C., Sutherland PA, Silbershatz H, D'Agostino RB, Muller JE, Myers RH, Levy D,

Gonzalez, F. J., Gelboin, H. V. (1993). Role of cytochrome P-450 in risk assessment and susceptibility to environmentally based disease. *J. Toxicol. Environ. Health.* 40, 289 –308.

Goodall, A. H., Curzen, N., Panesar, M., Hurd, C., Knight, C. J., Ouwehand, W. H., Fox, K. M. (1999) Increased binding of fibrinogen to glycoprotein IIIa-proline33 (HPA-1b, PIA2, Zwb) positive platelets in patients with cardiovascular disease. *Eur Heart J.* 20:742–747.

Guengerich, F. P. (1990). Enzymatic oxidation of xenobiotic chemicals. *CRC Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 25, 97-153.

Haddad, T. (2002): Uptdate on preeclampsia. *Intrrer. Anesth. Clin.* 40:4, 115-35.

Haines, J. L., Pericak-Vance, M. A. (1998). Approaches to gene mapping in complex human diseases. New York: Wiley-Liss.

Harries, L. W., Stubbins, M. J., Forman, D., Howard, G. C. and Wolf, C. R. (1997). Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Rev. Carcinogenesis*. 18, 641-44.

Hayes, J. D. and McLellan, L. I. (1999) Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radical. Res.* 31, 273-300.

Hayes, J. D., Pulford, D. J. (1995). The glutathione S-transferase supergene family: Regulation of GST and the contribution of isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 30, 445– 600.

Heijn, M., Oude Elferink, R. P. J. and Jansen, P. M. L. (1992). ATP-dependent multispecific organic anion transport system in rat erythrocyte membrane vesicles. *Am. J. Physiol.* 262, C104-C110.

Heiskanen, J. T., Pirskanen, M. M., Hiltunen, M. J., Mannermaa, A.J., Punnonen, K. R., Heinonen, S. T. (2001). Insertion-deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is associated with obstetric cholestasis but not with preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 185, 600-3.

Higgins, J. R., Brennecke, S. P. (1998). Preeclampsia still a disease of theories *Curr Opin. Obstet. Gynecol.* 10, 129 –33.

Higuchi, R., Fokler, C., Dollinger, G., Watson, R. (1993). Kinetic PCR analysis: Real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Bio/Technology* .11:1026-30.

Holland, P. M., Abramson, R. D., Watson, R., Gelfand, D. H. (1991). Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'-3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase. *Proceedings of The National Academy of Sciences USA.* 88:7276-80.

Hubel, C. A., Roberts, J. M., Taylor, R. N., Musci, T. J., Rodgers, G. M., McLaughlin, M. K. (1989). Lipid peroxidation in pregnancy: New perspectives on preeclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 161, 1025–34.

Hynes, R. O. (1992). Integrins: Versatility, modulation and signaling in cell adhesion. *Cell*. 69, 11-25.

Hynes, R. O., Hodivala-Dilke, K.M (1999). Insights and questions arising from studies of a mouse model of Glanzmann thrombasthenia<sup>1</sup>. *Thromb. Haemost.* 82, 481-5.

Ishikawa, T. (1992). The ATP-dependent glutathione S-conjugate export pump. *Trends. Biochem. Sci.* 17, 463-468.

IMSS. (1998). Embarazo de alto riesgo. Guía diagnóstica terapéutica. *Rev. Med. IMSS.* 36:1, 45-60.

Kerr, J. S., Slee, A. M., Mousa, S. A. (2000). Small molecule alpha(v) integrin antagonists: novel anticancer agents. *Expert. Opin. Investig. Drugs.* Jun;9(6):1271-9.

Ketley, J. N., Habig, W. H. and Jakoby, W. B. (1976). Binding of nonsubstrate ligands to the glutathione S-transferases. *J. Biol. Chem.* 250, 8670-8673.

Kelley, M. K., Engqvist-Goldstein. A., Montali, J. A., Wheatley, J. B., Schmidt, D. E., Kauvar, L. M. (1994). Variability of glutathione S-

transferase isoenzyme patterns in matched normal and cancer human breast tissue. *Biochem. J.* 304, 843–48.

Listowsky, I., Abramovitz, M., Homma, H. and Niitsu, Y. (1988). Intracellular binding and transport of hormones and xenobiotics by glutathione S-transferase. *Drug Metab. Rev.* 19, 305-318.

López, P., Casas, J., Serrano, N. (1996). Preeclampsia: from epidemiological observations to molecular mechanism. *Braz. J. Med. Biol. Res:* 2001.10, 1227-35.

Loverro, G., Greco, P., Capuano, F., Carone, D., Cormio, G., Selvaggi, L. (1996). Lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in pregnancy complicated with hypertension. *Eur. J. Obstet. Gynaecol. Reprod. Biol.* 70, 123–7.

Pontiggia, L., Lassila, R., Pederiva, S., Rudolf, H., Burger, M., Juerg, H. (2002) Increased Platelet-Collagen Interaction Associated With Double Homozygosity for Receptor Polymorphisms of Platelet GPIa and GPIIIa. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 22:2093-2098.)

McLellan, L. I. and Wolf, C. R. (1999). Glutathione and glutathione-dependent enzymes in cancer drug resistance. *Drug. Resist. Update.* 2, 153-164.



Morgan, T., Ward, K. (1999). New insights into the genetics of preeclampsia. *Semin. Perinatol.* 23, 14-23.

Morrow, C. S. Cowan, K. H. Goldsmith, M. E. (1989). Structure of the human genomic glutathione S-transferase-pi gene. *Gene* 75: 3-11

Moscow, J. A., Townsend, A. J., Goldsmith, M. E., Whang-Peng, J., Vickers, P. J., Poisson, R., Legault-Poisson, S., Myers, C. E., Cowan, K. H. (1988). Isolation of the human anionic glutathione S-transferase cDNA and the relation of its gene expression to estrogen-receptor content in primary breast cancer. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 85, 6518-6522.

Myers, J. E., Baker, P. N. (2002). Hypertensive diseases and eclampsia. *Curr Opin. Obstet. Gynecol.* 14, 119-125.

National Heart Lung And Blood Institute. (2000). National High Blood Pressure Education Program: Working Group Report On High Blood Pressure In Pregnancy. Bethesda (MD): National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI); Jul. 38 p.

Ojima, I., Chakravarty, S., Dong, Q. (1995). Antithrombotic agents: from RGD to peptide mimetics. *Bioorg. Med. Chem.* 3, 337-360.

O'Shaughnessy, K. M., Fu, B., Downing, S. (2001). Thrombophilic polymorphisms in preeclampsia: altered frequency of the functional 98C>T polymorphism of glycoprotein IIIa. *Med. Genet.* 38, 775-79.

Pegoraro, R. J., Hira, B., Rom, L., Moodley, J. (2003): Plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI1) and platelet glycoprotein IIIa (GPIIIa) polymorphisms in Black South Africans with pre-eclampsia. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 82, 313-7.

Ranson, H., Prapanthadara, L. and Hemingway, J. (1997). Cloning and characterization of two glutathione S-transferases from a DDT-resistant strain of *Anopheles gambiae*. *Biochem. J.* 324, 97-102.

Roberts, J. M., Cooper, D. W. (2001). Pathogenesis and genetics of preeclampsia. *Lancet.* 357, 53-6.

Roberts, J. M., Pearson, G., Cutler, J., Lindheimer, M. (2003). Summary of the NHLBI Working Group on Research on Hypertension During Pregnancy. *Hypertension.* 41, 437-445.

Ruoslahti, E. (1991). Integrins. *J Clin Invest.* 87, 1-5.

Ruggeri, G. M. (1993). Mechanisms of shear induced platelet adhesion and aggregation. *Thromb. Hemostasis*. 70, 119-123.

Salinas, A. E. and Wong, M. G. (1999). Glutathione S-transferases - a review. *Curr. Med. Chem.* 6, 279-309.

Sheehan, D., Gerardene, M., Vivienne, M., Foley And Catriona A. Dowd. (2001). Structure, Function And Evolution Of Glutathione Transferases: Implications For Classification Of Non-Mammalian Members Of An Ancient Enzyme Superfamily *Biochem. J.* 360, 1-16.

Skjerven, R., Wilcox, A. J., Lie, R.T., (2002). The Interval Between Pregnancies and the Risk of Preeclampsia. *N. Engl. J. Med.* 346:1, 33-8.

Smith, Robert (1996). *Ecology and field biology*. New York: Harper Collins.

Sohdas., Arinami, T., Hamada, H., Yamada, N., Hamaguchi, H., Kubo, T. (1997). Methylene tetrahydrofolate reductase polymorphism and preeclampsia. *J. Med. Genet.* 34, 525-6.

Sosnoski, D. M., Emanuel, B. S., Hawkins, A. L., vanTuinen, P., Ledbetter, D. H., Nussbaum, R. L., Kaos, F.-T., Schwartz, E., Phillips,

D., Bennett, J. S., Fitzgerald, L. A., Poncz, M. (1988). Chromosomal localization of the genes for the vitronectin and fibronectin receptors alpha-subunits and for platelet glycoproteins IIb and IIIa. J. Clin. Invest. 81, 1993-1998,.

Spiegel, M. R. (1987). Estadística. 2ª ed. McGraw-Hill. México.

Springer, T.A. (1994). Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: The multi-step paradigm. Cell 76:301.

Strachan, T., Read, A. P. (1999) . Human molecular genetics. 2nd. edition. New York: Wiley-Liss.

Tang, A. H. and Tu, C. P. D. (1994). Biochemical characterization of Drosophila glutathione S-transferases D1 and D2. J. Biol. Chem. 269, 27876-27884.

Tamarin, R. H. (1996) Principios de Genética Ed Reverté. Barcelona

Tew, K. D. (1994) Glutathione-associated enzymes in anticancer drug resistance. Cancer. Res. 54, 4313-4320.

Thirkill, T. L., Douglas, G. C. (1999) The vitronectin receptor plays a role in the adhesion of human cytotrophoblast cells to endothelial cells. Endothelium. 6, 277-90.

Tierney., McPhee., Papadakis. (2003). Diagnóstico clínico y tratamiento. 38ª ed, México, Manual Moderno. 770-773.

Tofler, G. H. (1999) Increased platelet aggregability associated with platelet GPIIIa PIA2 polymorphism: the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 19:1142–1147.

Uotila, J., Tuimala, R., Aarnio. T., Pyykko, K. (1990). Erythrocyte glutathione peroxidase activity in hypertensive complications of pregnancy. *Gynecol. Obstet. Invest.* 29, 259–62.

Velasco-Vitelio, M. (1998). Guía Diagnóstica Terapéutica. Preeclampsia/Eclampsia. Atención Prenatal en Medicina Familiar. *Rev. Med. IMSS México.* 36:1, 47-60

Vijayan, K. V., Goldschmidt-Clermont, P. J., Roos, C., Bray, P. F. (2000) The PI(A2) polymorphism of integrin beta(3) enhances outside-in signaling and adhesive functions. *J Clin Invest.* 105:793–802.

Watson, M. A., Stewart, R. K., Smith, G. B., Massey, T. E., Bell, D. A. (1998). Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms:

Relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis*. 9, 275– 80.

Weiss, E. J., Bray, P.F., Tayback, M., Schulman, S.P., Kickler, T. S., Becker, L. C., Weiss, J. L., Gerstenblith, G., Goldschmidt, Clermont P.J. (1996). A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N. Engl. J. Med.* 334, 1090-4.

Wilson, M. I., Goodwin, T. M., Pan, V. I., Ingles, S.A. (2003). Molecular epidemiology of preeclampsia. *Obstet and Gynecol Survey*. 58:1, 39-66

Wong, C.H. (1995). *Bioorg. Med. Chem.* 3 :4, 337-360.

Yamada, S., Brown, K. E., Yamada, K. M. (1995): Differential mRNA regulation of integrin subunits alpha V, beta 1, beta 3, and beta 5 during mouse embryonic organogenesis. *Cell. Adhes. Commun.* Nov. 3:4, 311-25.

Zhou, Y., Damsky, C. H., Fisher, S. J. (1997). Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome. *J. Clin. Invest.* 99, 2152-64.

Zhou, N., Yu, P., Chen, J., Huang, H., Jiang, S. (1999) Detection of insertion/deletion polymorphism of angiotensin converting enzyme gene in preeclampsia. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 10:1, 29-31.

Zimmerman, C. N. (1999). Peptide and peptidomimetic inhibitors of VLA-4. *Exp. Opin. Ther. Patents* 9, 129-133.

Zimniak, P., Singhal, S. S., Srivastava, S. K., Awasthi, S., Sharma, R., Hayden, J. B. and Awasthi, Y. C. (1994). Estimation of genomic complexity, heterologous expression, and enzymatic characterization of mouse glutathione S-transferase mGSTA4-4 (GST 5.7). *J. Biol. Chem.* 269:2, 992-1000.

Zuluaga, N. A., Cuartas, J. M., Londoño, J. G. (2004) Genética de la preeclampsia: una aproximación a los estudios de ligamiento genético. *Biomédica.* 24, 207-25

Zusterzeel, P. L. M., Willy, Visser., Wilbert, H. M., Peters, P., Hans, W. M. J., Merkus, Md., Willianne, L. D. M., Nelen, Md. And Steegers, E. A. P. (2000). Polymorphism In The Glutathione S-Transferase P1 Gene And Risk For Preeclampsia. *Obstetgynecol.* 96, 50-4.

Zusterzeel, P. L. M., Morsche, R., Raijmakers, M. T. M., Roes, E. M., Peters, W. H. M. and Steegers, E. A. P. (2002). Paternal contribution to the risk for pre-eclampsia. *Journal of Medical Genetics*. 39, 44-45.

Zusterzeel, P. L. M., Peters, W. H. M., Bruyn, M. A. H., Knapen, M. F. C. M., Merkus, H. M. W. M; Steegers, E. A. P. (1995) Glutathione S-transferase isoenzymes in decidua and placenta of preeclamptic pregnancies. *Obstet. Gynec.* 94, 1033-1038.



### **Abreviaturas Usadas :**

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Acido ribonucleico
BUN	Nitrógeno ureico sérico
DI	Decilitro
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
GFR	Tasa de filtración glomerular
GP IIIa	Glicoproteina Plaquetaria IIIa
GST PI	Glutation S Transferasa PI
HLA	Antígenos leucocitarios humanos
IGF-2	Factor de crecimiento semejante a la insulina
Kb	Kilobases
Krpm	Kilorevoluciones por minuto
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
Mg	Miligramos
mmHg	Milímetros de mercurio
mM	Milimolar
Ng	Nanogramos
Pb	Pares de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PE	Preeclampsia
PGI <sub>2</sub>	Prostaciclina
Pmol	Picomoles
RCLB	Amortiguador de lisis de células rojas

Rpm

Revoluciones por minuto