



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD EN
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA
“LUIS CASTELAZO AYALA”**

**ASOCIACIÓN DE POLIMORFISMOS EN EL
PROMOTOR DEL GEN DE LA HORMONA
LIBERADORA DE CORTICOTROPINA CON EL PARTO
PRETÉRMINO**

**TESIS DE POSTGRADO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y
OBSTETRICIA
P R E S E N T A
DRA. CLAUDIA CÓRDOBA ZAVALA**

ASESOR:

**Dr. FABIÁN J. ARECHAVALETA VELASCO
INVESTIGADOR ASOCIADO C**



IMSS

MEXICO, D. F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA
“LUIS CASTELAZO AYALA” IMSS

**Asociación de polimorfismos en el promotor del gen de la hormona liberadora de
corticotropina con el parto pretérmino.**

Dr. Juan Carlos Izquierdo Puente
Director Médico

Dr. Sebastián Carranza Lira
Director de Educación Médica e Investigación

Dr. Fabián J. Arechavaleta Velasco
Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva
Investigador Asociado C

INDICE

RESUMEN.....	5
ANTECEDENTES CIENTÍFICOS.....	6
HIPOTESIS GENERAL	9
OBJETIVO GENERAL	10
Objetivos específicos.....	10
MATERIAL Y METODOS.....	11
Sujetos de estudio.....	11
Variables consideradas en el estudio.....	12
Protocolo de estudio	12
Análisis estadístico	13
RESULTADOS	14
DISCUSION.....	15
BIBLIOGRAFIA.....	16
APENDICES.....	19

RESUMEN

Introducción: El parto pretérmino es una patología de frecuente presentación a nivel mundial, cuya trascendencia en el resultado perinatal continúa siendo ominosa a pesar de los adelantos en la atención obstétrica y neonatal. Aun cuando se han propuesto múltiples y diversas explicaciones para su etiología, los factores y mecanismos moleculares que conducen a esta patología permanecen aún poco entendidos. Se sabe que el incremento precoz de la CRH sérica juega un papel importante en el desencadenamiento del parto pretérmino, y que su producción depende de la presencia o ausencia de polimorfismos en su promotor.

Objetivo: Determinar si existen polimorfismos en el promotor del gen de hormona liberadora de corticotropina que tengan relación con el parto pretérmino.

Diseño del estudio: Se realizó un estudio de casos y controles de tipo experimental, prospectivo y longitudinal obteniendo muestras de tejidos gestacionales de 47 pacientes con parto pretérmino y 44 pacientes de término. En estos tejidos se determinó la presencia de dos polimorfismos en el promotor de la CRH, utilizando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa y análisis con enzimas de restricción.

Resultados: Los grupos de estudio y control presentaron características demográficas similares entre ellos a excepción de la edad gestacional. La distribución de los polimorfismos entre la población estudiada fue similar a la reportada en otras poblaciones. Por otra parte, no se encontró diferencia significativa entre las pacientes del grupo control y experimental con respecto a la presencia de éstas variantes polimórficas.

Conclusiones: La presencia de polimorfismos en el promotor de la CRH no tiene una influencia significativa en la posibilidad de desencadenar el parto pretérmino.

ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

El parto pretérmino se define como aquel que se produce antes de las 37 semanas de gestación (1-4), siendo uno de los mayores problemas clínicos en la obstetricia moderna, ya que se presenta hasta en el 12% del total de los embarazos (5, 6). A pesar de que algunos partos pretérminos se presentan por decisión médica, se considera que el 30% de ellos se asocia a un origen infeccioso, y un 40% se determinan como idiopáticos (2, 4). Además de su alta prevalencia, el parto pretérmino contribuye con un 75% de la morbilidad y mortalidad perinatal asociada principalmente a síndrome de dificultad respiratoria, hemorragia interventricular, enterocolitis necrotizante, sepsis y bajo peso al nacer (2, 4, 5).

El origen etiopatogénico para el parto pretérmino aun permanece sin explicación definitiva, considerándose en la actualidad que es multifactorial, teniendo en cuenta que puede desencadenarse por causa materna, uterina, inherente al embarazo o iatrogénica (2). Entre las causas maternas se encuentran el síndrome pre-eclampsia-eclampsia, las complicaciones abdominales no obstétricas (apendicitis, colecistitis, etc.), las enfermedades sistémicas, los traumatismos y la drogadicción. En cuanto a las causas uterinas, se puede mencionar la incompetencia istmicocervical, la miomatosis y las malformaciones uterinas congénitas. En los últimos años se considera que la causa principalmente involucrada en el parto pretérmino son las infecciones cervicovaginales y corioamnioitis clínicas o subclínicas provocadas principalmente por gérmenes como *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis* *Peptostreptococcus* y *Bacteroides species*, así como la respuesta inflamatoria que se desencadena por parte de la madre, en la cual intervienen interleucinas y factores que degradan la matriz extracelular (2, 5, 7, 8). Es importante mencionar que a pesar de éstas consideraciones, un gran porcentaje de partos pretérmino permanece sin explicación, pareciendo deberse simplemente a un desencadenamiento precoz de los mecanismos fisiológicos que dan inicio al trabajo de parto (2, 5, 7, 9). Con respecto a esto, se han propuesto desde hace varias décadas diversas teorías siguiendo modelos animales (ovejas, primates, etc), sin lograr extrapolación exacta al humano o dar respuesta satisfactoria a los fenómenos iniciadores de éste proceso. En la mayoría de los casos se involucran estrógenos, progesterona y actualmente a la hormona liberadora de corticotropinas (CRH) (7, 9).

La CRH es un polipéptido de 41 aminoácidos que es sintetizado por los tejidos de la unidad materno-fetal y secretada a la circulación materna en forma exponencial durante la gestación, sugiriéndose que funciona como un reloj para determinar la duración del embarazo y el momento del trabajo de parto (10-17). De manera interesante, se ha demostrado que mujeres en trabajo de parto pretérmino tienen concentraciones sérica de CRH elevadas, por lo que actualmente se utiliza como marcador bioquímico para diagnosticar aquellas pacientes que desarrollaran parto pretérmino (10, 18, 19).

Las funciones biológicas de la CRH durante el embarazo permanecen aun poco conocidas, sin embargo si se ha logrado establecer que la CRH, a través de mecanismos autocrinos, paracrinos o endocrinos, regula una serie de eventos moleculares que favorecen el embarazo o en su momento el trabajo de parto. A este respecto, se ha planteado que: 1) la CRH puede regular de manera directa la contractilidad y quiescencia miometrial, jugando un papel importante en la prevención del trabajo de parto prematuro (20), 2) la CRH puede influir de manera indirecta en la contracción miometrial al estimular la producción de prostaglandinas en la placenta y membranas fetales (21), 3) la CRH juega un papel importante en la regulación del flujo sanguíneo placentario (11, 22), 4) la CRH es capaz de inducir moléculas asociadas al parto pretérmino tales como interleucinas y enzimas que degradan la matriz extracelular y 5) la CRH participa de manera importante en la regulación de la función de la glándula adrenal fetal, favoreciendo la maduración de diversos órganos en el feto (23). Algunos de estos mecanismos pueden haber surgido para la protección del feto contra el estrés ambiental, sin embargo, en ciertas circunstancias es posible que el estrés materno o fetal participen de manera importante en el inicio de los eventos moleculares que induzcan el trabajo de parto a término o pretérmino.

La expresión del gene placentario de CRH y la consecuente secreción de la hormona biológicamente activa es controlada por diversos factores tales como el óxido nítrico, progesterona, catecolaminas, oxitocina, citocinas y glucocorticoides (7). De estas moléculas resalta de manera interesante la interacción entre el cortisol y la progesterona, ya que esta última es capaz de inhibir la expresión de la CRH, efecto que puede ser revertido por la presencia del cortisol (24).

Cabe mencionar que la cantidad o velocidad de la producción de CRH en cualquier tejido esta determinada por el total de transcritos sintetizados, los cuales a su vez dependen de la actividad del promotor del gene de la hormona. El promotor es una región del DNA que participa en la unión de la RNA polimerasa y otros factores para iniciar la transcripción (25), la cual puede presentar variaciones alélicas conocidas como polimorfismos, los cuales no forzosamente presentan modificaciones en la estructura de la proteína, pero si pueden modificar la actividad del promotor, dando como consecuencia una diferencia en la síntesis de dicha proteína. Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), son un tipo de variación en donde existen diferencias de una sola base que aparecen en la secuencia del DNA entre individuos de una población. Los SNPs están presentes en el genoma humano con una frecuencia de una por cada 1,000 pares de bases. Estos cambios en ocasiones alteran los sitios reconocidos por enzimas de restricción, característica que ha sido ampliamente utilizada para su estudio (26). La posibilidad de asociar los polimorfismos genéticos con la capacidad de respuesta a un proceso patológico ha proporcionado un avance importante para el entendimiento de la fisiopatogenia de las enfermedades. En el caso de la CRH se han identificado diferentes SNPs que han sido asociados principalmente a la artritis reumatoide. Por ejemplo, los polimorfismos localizado en las posiciones 1273 y 225 del promotor de la CRH, los cuales son un cambio de T por C y T por G, han sido asociados como marcadores para la susceptibilidad de la artritis reumatoide (27).

Dado a que se sabe que el incremento precoz de la CRH sérica juega un papel importante en el desencadenamiento del parto pretérmino, y que su producción depende de la presencia o ausencia de polimorfismos en su promotor, por lo tanto, el propósito del presente estudio es determinar si existe asociación de la presencia los polimorfismos del promotor de CRH con el desarrollo de parto pretérmino en pacientes que acudan a la UMAE, HGO4 "Luis Castelazo Ayala" IMSS.

HIPOTESIS GENERAL

El incremento precoz de la CRH sérica juega un papel importante en el desencadenamiento del parto pretérmino. Por otra parte, se sabe que la síntesis de esta hormona depende de la actividad de su promotor, por lo tanto, si existen polimorfismos en el promotor del gen de la hormona liberadora de corticotropina capaces de alterar su tasa de transcripción entonces la presencia de estos en mujeres embarazada, podrían desencadenar el parto pretérmino.

OBJETIVO GENERAL

Determinar si existen polimorfismos en el promotor del gen de la hormona liberadora de corticotropina que tengan relación con el inicio del parto pretérmino.

Objetivos Específicos

Asociar la presencia de polimorfismos en las posiciones 1273 y 225 del promotor del gen de CRH, con la presentación del trabajo de parto.

MATERIAL Y METODOS

Se realizó un estudio de tipo observacional, prospectivo, transversal, comparativo, controlado en el cual se incluyeron pacientes que ingresaron a la Unidad Medica de Alta Especialidad en Ginecología y Obstetricia "Luis Castelazo Ayala" del Instituto Mexicano del Seguro Social, en el periodo comprendido de noviembre de 2003 al 31 de enero 2006. En todos los casos se cumplieron los siguientes criterios:

Inclusión

1. Pacientes con parto pretérmino (23 a 36 semanas de gestación)
2. Derechohabientes del IMSS
3. Cualquier edad materna Cualquier gesta o paridad previa

No inclusión

- Pacientes con embarazo menor de 23 semanas
- Pacientes cuyo embarazo se interrumpe por acción médica
- Embarazo gemelar
- Polihidramnios
- Pre-eclampsia
- Malformaciones fetales
- Malformaciones uterinas, antecedente de incompetencia ístmico-cervical
- Patología asociada (diabetes gestacional, preeclampsia, infección de vías urinarias, etc.)
- Muerte fetal
- Infección intra-amniótica demostrada
- Corioamnioitis
- No derechohabiente

Sujetos de estudio

En total se incluyeron 91 pacientes en este estudio, que se dividieron en dos grupos. El primero considerado el grupo control (C) fueron pacientes que presentaron

parto de término, mientras que el segundo grupo resulto de aquellas pacientes que presentaron parto pretérmino.

Variables consideradas en el estudio

Polimorfismo: variación alélica que ocurre naturalmente en el genoma de un organismo.

Parto pretérmino: Embarazo resuelto por vía vaginal o abdominal entre las 21 y las 37 semanas de gestación sin patología sobre agregada.

Parto de término: Aquel resuelto de manera espontánea después de las 38 semanas de gestación y sin patología sobre agregada.

Otras variables que se consideraron en el estudio fueron:

1. Edad
2. EG al momento del parto
3. Gesta
4. Partos
5. Cesáreas
6. Abortos
7. Peso al nacimiento

Protocolo de estudio

En el servicio de tococirugía se obtuvieron fragmentos de placenta de pacientes que cumplieron los criterios de inclusión, los cuales se almacenaron a -70°C en la unidad de investigación hasta su procesamiento. Para determinar los polimorfismos del promotor de CRH se utilizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para lo cual se extrajo DNA total de las muestras obtenidas empleando 1 ml de DNAzol (Invitrogen, Life Technologies, Carlsbad, CA) según las instrucciones del fabricante. Para la amplificación se utilizaron dos pares de oligonucleótidos que comprenden diferentes zonas de la región del promotor para la CRH (Tabla 1). La mezcla de reacción se preparó utilizando Platinum PCR SuperMix (Invitrogen, Life Technologies, Carlsbad, CA), 200 nM de cada uno de los oligonucleótidos y 200 ng del DNA en un volumen final de 50 µl. La

amplificación se llevó a cabo en un termociclador Mastercycler gradient (Eppendorf Hamburg, Germany) bajo las siguientes condiciones: un ciclo de inicial de 5 min. a 94°C seguido por 35 ciclos de 45 seg. a 94°C, 45 seg. a la temperatura específica de alineamiento para cada par de oligonucleótidos (Tabla I) y 60 seg. a 72°C. Finalmente, la amplificación se completó con un ciclo de 72°C por 7 min. Los polimorfismos para el promotor de la CRH fueron analizados por digestión con enzimas de restricción, usando Afl III (Promega Corporation, Madison, WI) para el CRH-A y Xmn I (New England BioLabs, Inc., Beverly, MA) para CRH-B. El resultado de la digestión con enzimas de restricción fue analizado por electroforesis en gel de agarosa al 1.8% (Invitrogen, Life Technologies, Carlsbad, CA). En el caso del polimorfismo CRH-A, la enzima Afl III generó dos fragmentos de 185 y 98 bp si T esta presente, mientras que el fragmento generado cuando C se encontró en esta posición fue de 283 bp. En lo referente al polimorfismo CRH-B con Xmn I, el fragmento de 818 bp fue cortado en dos fragmentos de 573 y 245 bp cuando T este presente pero no cuando G esta presente (Figura 1).

Análisis estadístico

El análisis estadístico de las variables experimentales se realizará usando un programa estadístico "Sigma Stat para Windows. Statistical Software. Versión 2.0" (Jandel Corporation). Para comparar las diferencias de los polimorfismos en el promotor de la CRH se empleó la prueba chi cuadrada. Se estableció un nivel de significancia con un valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS

El análisis estadístico entre los dos grupos con respecto a: edad, gestas, partos, cesáreas y abortos no mostró diferencias significativas, pero si con respecto a la edad gestacional al nacimiento (Tabla 2).

Todas las mujeres fueron genotipadas para la presencia de ambos polimorfismos en el promotor de la CRH. La distribución del polimorfismo CRH-A en nuestra población cumplió con el equilibrio de Hardy-Weinberg ($0.95 [TT]+0.05 [CC]=1$; con una distribución predicha de 89.31% (TT), 10.39% (TC) y 0.3% (CC), comparado con la distribución observada del polimorfismo que fue 89.01% (TT), 10.99% (TC) y 0.0% (CC); $P >0.05$). Asimismo, el polimorfismo CRH-B también cumple con el equilibrio de Hardy-Weinberg ($0.98 [TT]+0.02 [GG]=1$; con una distribución predicha de 95.60% (TT), 4.35% (TG) y 0.05% (GG), comparado con la distribución observada del polimorfismo que fue 95.56% (TT), 4.44% (TG) y 0.0% (GG); $P >0.05$). Las frecuencias observadas en nuestra población para ambos polimorfismos están de acuerdo con datos previamente publicados en una población del noroeste de España (27). Las frecuencias de ambos polimorfismos y la distribución de genotipos en las pacientes que presentaron parto pretérmino y los controles no mostraron diferencias estadísticas significativas (Tabla 3).

DISCUSION

La hormona liberadora de corticotropina juega un papel importante en el inicio del trabajo de parto tanto a término como pretérmino. Los mecanismos utilizados por esta hormona para la inducción del trabajo de parto incluyen la regulación directa de la contractilidad miometrial y su capacidad para estimular la producción de prostaglandinas, interleucinas y metaloproteasas de matriz extracelular por la placenta y membranas fetales (20, 21). Cabe mencionar, que estas moléculas son los responsables de la génesis y desarrollo del parto, así como la ruptura de las membranas fetales (28). Por otra parte, se ha demostrado la existencia de variaciones polimórficas en el promotor del gen de la CRH que se han asociado principalmente a la artritis reumatoide, pero no han sido evaluados en el contexto del parto pretérmino aun.

De acuerdo con los resultados del análisis genético para los dos polimorfismos en el promotor de la CRH de las pacientes de ambos grupos, se observó que la distribución alélica de la población mexicana es similar a la observada en la población español (27). Asimismo, no se logro demostrar que la presencia de estas variaciones alélicas incrementara el riesgo relativo a desencadenar el parto pretérmino, lo cual puede fundamentarse por la cantidad de las pacientes homocigotas con respecto a éstas alteraciones, es decir, que la totalidad de las pacientes en las que se identificaron los polimorfismos CRH-A y CRH-B fueron heterocigotas, sugiriendo que la presencia de un alelo "normal", es suficiente para que la expresión de la hormona se mantenga en concentraciones adecuadas para ejercer sus funciones. Lo anterior no descartar la posibilidad de que en un estudio con mayor población, se encuentren pacientes homocigotos a los alelos polimórficos, y que esta condición se asocie con el parto pretérmino.

En conclusión se puede mencionar que los polimorfismos del promotor del gen para CRH no juegan un papel importante en el desencadenamiento del parto precoz, sin embargo aun permanece sin ser establecida la participación de polimorfismos en otras moléculas que pudieran inducir el parto pretérmino.

BIBLIOGRAFIA

1. ACOG. Practice Bulletin Number 31. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. Assessment of risk factors for preterm birth. *Obstet Gynecol* 2001; 98:709-16.
2. Amon E. Premature labor. In: Reece AE, Hobbins JC, eds. *Medicine of the fetus and the mother*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998.
3. Challis JR, Lye SJ, Gibb W, Whittle W, Patel F, Alfaidy N. Understanding preterm labor. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 943:225-34.
4. Mercer BM, Goldenberg RL, Das A, et al. The preterm prediction study: a clinical risk assessment system. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174:1885-93.
5. Creasy RK. Preterm birth prevention: where are we? *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168:1223-30.
6. Mattison DR, Damus K, Fiore E, Petrini J, Alter C. Preterm delivery: a public health perspective. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2001; 15 Suppl 2:7-16.
7. Challis JRG, Matthews SG, Gibb W, Lye SJ. Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm. *Endocr Rev* 2000; 21:514-50.
8. Romero R, Oyarzun E, Mazor M, Sirtori M, Hobbins JC, Bracken M. Meta-analysis of the relationship between asymptomatic bacteriuria and preterm delivery/low birth weight. *Obstet Gynecol* 1989; 73:576-82.
9. Levrant SG. Endocrinología del embarazo. In: Gleicher N, ed. *Tratamiento de las complicaciones clínicas del embarazo*. Mexico, D. F.: Editorial Médica Panamericana, 2000.
10. Campbell EA, Linton EA, Wolfe CD, Scraggs PR, Jones MT, Lowry PJ. Plasma corticotropin-releasing hormone concentrations during pregnancy and parturition. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64:1054-9.
11. Clifton VL, Telfer JF, Thompson AJ, et al. Corticotropin-releasing hormone and proopiomelanocortin-derived peptides are present in human myometrium. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:3716-21.
12. Goland RS, Wardlaw SL, Stark RI, Brown LS, Jr., Frantz AG. High levels of corticotropin-releasing hormone immunoactivity in maternal and fetal plasma during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 63:1199-203.

13. Gravanis A, Makrigiannakis A, Zoumakis E, Margioris AN. Endometrial and myometrial corticotropin-releasing hormone (CRH): its regulation and possible roles. *Peptides* 2001; 22:785-93.
14. McLean M, Bisits A, Davies J, Woods R, Lowry P, Smith R. A placental clock controlling the length of human pregnancy. *Nat Med* 1995; 1:460-3.
15. Petraglia F, Sawchenko PE, Rivier J, Vale W. Evidence for local stimulation of ACTH secretion by corticotropin-releasing factor in human placenta. *Nature* 1987; 328:717-9.
16. Riley SC, Walton JC, Herlick JM, Challis JR. The localization and distribution of corticotropin-releasing hormone in the human placenta and fetal membranes throughout gestation. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72:1001-7.
17. Warren WB, Silverman AJ. Cellular localization of corticotrophin releasing hormone in the human placenta, fetal membranes and decidua. *Placenta* 1995; 16:147-56.
18. Sasaki A, Shinkawa O, Margioris AN, et al. Immunoreactive corticotropin-releasing hormone in human plasma during pregnancy, labor, and delivery. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64:224-9.
19. Warren WB, Patrick SL, Goland RS. Elevated maternal plasma corticotropin-releasing hormone levels in pregnancies complicated by preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166:1198-204; discussion 1204-7.
20. Grammatopoulos DK, Hillhouse EW. Role of corticotropin-releasing hormone in onset of labour. *Lancet* 1999; 354:1546-9.
21. Jones SA, Challis JR. Local stimulation of prostaglandin production by corticotropin-releasing hormone in human fetal membranes and placenta. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 159:192-9.
22. Leitch IM, Boura AL, Botti C, Read MA, Walters WA, Smith R. Vasodilator actions of urocortin and related peptides in the human perfused placenta in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:4510-3.
23. Karteris E, Randeva HS, Grammatopoulos DK, Jaffe RB, Hillhouse EW. Expression and coupling characteristics of the CRH and orexin type 2 receptors in human fetal adrenals. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:4512-9.
24. Karalis K, Goodwin G, Majzoub JA. Cortisol blockade of progesterone: a possible molecular mechanism involved in the initiation of human labor. *Nat Med* 1996; 2:556-60.
25. Lewin B. *Genes VII*. ed. New York: Oxford University Press, 2000, pp. 41-44.

26. Keen LJ. The extent and analysis of cytokine and cytokine receptor gene polymorphism. *Transpl Immunol* 2002; 10:143-6.
27. Gonzalez-Gay MA, Hajeer AH, Garcia-Porrúa C, et al. Corticotropin-releasing hormone promoter polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis from northwest Spain. *J Rheumatol* 2003; 30:913-7.
28. Peltier MR. Immunology of term and preterm labor. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1:122.

APENDICES

Tabla 1. Secuencia de oligonucléotidos, temperaturas de alineamiento y enzimas de restricción utilizadas para la determinación de polimorfismos en el promotor de la hormona liberadora de corticotropina.

SNP	Oligos	Tm (°C)	Enzima
CRH-A	5'-GCTGTTCTTGTGATAGTAAATA-3' 5'-CCCCAGAGGAAGAGAAGC-3'	52	Afl III
CRH-B	5'-TGAAGGTACAAGGTG ATACAAGTGACAA-3' 5'-ACACAAACTGAGGTGAAAAGATGAA-3'	66	Xmn I

Tabla 2. Características demográficas de las pacientes incluidas en este estudio

	Parto de término (n=44)	Parto pretérmino (n=47)
Edad materna (años)	25.53 ± 5.61	25.08 ± 5.72
Edad gestacional al nacimiento (semanas) *	39.16 ± 0.83	33.67 ± 2.05
Gravidad †		
Primigestas	25 (56.8)	25 (53.2)
Multigestas	19 (43.2)	22 (46.8)
Paridad †		
Nuliparas	31 (70.4)	29 (61.7)
Multiparas (uno o mas partos previos)	13 (29.5)	18 (38.3)
Cesareas †	3 (6.8)	7 (14.9)
Abortos †	6 (13.6)	6 (12.8)

Los valores están representados como promedio ± desviación estándar.

* Diferencia significativa entre el grupo control y grupo de estudio ($p < 0.001$)

† Datos representados como número de pacientes (porcentaje).

Tabla 3. Genotipo y frecuencia alélica de los grupos estudiados. Los datos se presentan como n (frecuencia).

SNP		Parto de Término (n=44)	Parto Pretérmino (n=47)	R. R. (95% IC)	p
CRH-A	Genotipos				
	CC	0 (0.00)	0 (0.00)		
	CT	3 (0.068)	7 (0.149)		
	TT	41 (0.932)	40 (0.851)		
	CC+CT	3 (0.553)	7 (0.149)	1.68 (0.63-4.45)	0.371
	Alelos				
	C	85 (0.966)	87 (0.926)		
T	3 (0.034)	7 (0.074)	1.64 (0.63-4.29)	0.385	
CRH-B	Genotipos				
	GG	0 (0.00)	0 (0.00)		
	TG	2 (0.047)	2 (0.043)		
	TT	41 (0.953)	45 (0.957)		
	GG+GT	2 (0.047)	2 (0.043)	0.95 (0.35-2.61)	0.674
	Alelos				
	G	84 (0.976)	92 (0.979)		
T	2 (0.024)	2 (0.021)	0.95 (0.35-2.57)	0.677	

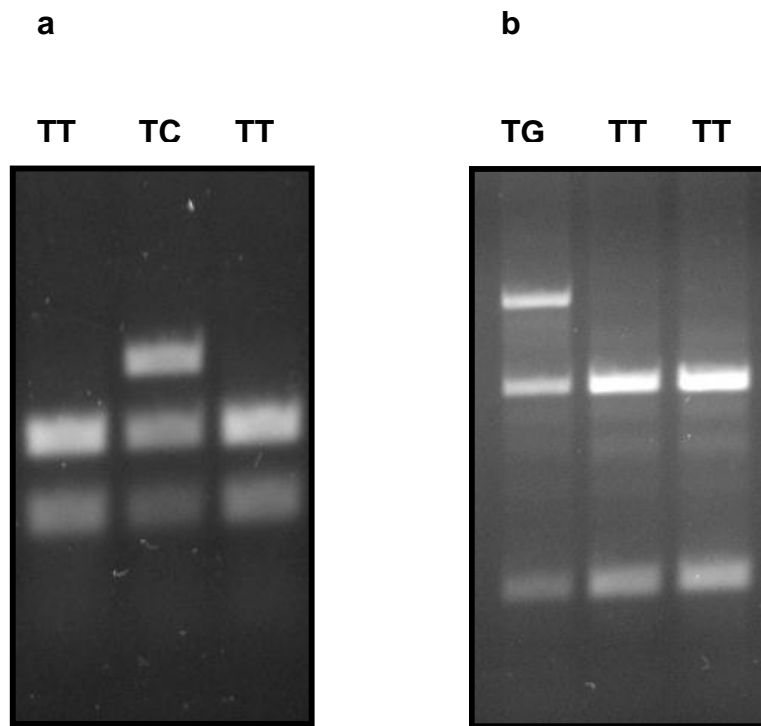


Figura 1. Polimorfismos presentes en la región promotora de la CRH. Análisis de restricción para a) CRH-A y b) CRH-B.