



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES**

**EXPRESIÓN DE MICRORNAS INDUCIDOS POR EL DESARROLLO PATOLÓGICO DE
PREECLAMPSIA DETECTADOS EN SUERO MATERNO.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA
EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

PRESENTA

DR. GILBERTO ARTURO ROBLES DELEÓN

MÉDICO RESIDENTE DE LA ESPECIALIDAD DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

DR. TOMÁS HERRERÍAS CANEDO

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN
EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

HÉCTOR FLORES HERRERA

DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR
DIRECTOR DE TESIS



MÉXICO D.F. 2013



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.

AUTORIZACIÓN DE TESIS

“Expresión de microRNAs inducidos por el desarrollo patológico de preeclampsia detectados en suero materno”



DR. RODRIGO AYALA YÁÑEZ

Director de Enseñanza

Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”



DR. TOMÁS HERRERÍAS CANEDO

Profesor Titular del Curso de Especialización en Ginecología y Obstetricia

Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”



HÉCTOR FLORES HERRERA

Director de Tesis

Investigador CMA. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”

RESUMEN

Introducción La preeclampsia (PE) es el resultado de la placentación deficiente seguida del estrés hemodinámico lo que conlleva a la hipertensión y proteinuria. Recientemente los microRNA han sido utilizados como marcadores moleculares en diferentes patologías asociadas a procesos inflamatorios.

Objetivo: Determinación en suero de pacientes con desarrollo de preeclampsia la expresión de los microRNA-153, -183, -200b, -210.

Material y Métodos Se obtuvo sangre periférica de pacientes 1) sin evidencias clínicas de PE y sin trabajo de parto (TP; n=15); 2) sin evidencias clínicas de PE y con TP activo (n=15); y 3) con evidencias clínicas de PE (n=15). El suero fue recuperado para obtener el RNA mediante el método de TRIzol. La expresión de los microRNAs fue realizada mediante RT-PCR con iniciadores específicos. Los resultados se presentan como la media \pm desviación estándar y el análisis estadístico se realizó mediante la prueba de Mann-Whitney con una diferencia significativa de $p < 0.05$.

Resultados La presión arterial ($p \leq 0.001$) y la edad gestacional ($p = 0.05$) de las pacientes fue estadísticamente significativas con respecto al grupo control. El microRNA-153, -183, -200b aumentaron, en tanto que el microRNA-210 disminuyó su expresión en las pacientes con PE con respecto al grupo sin trabajo de parto.

Conclusiones Estos resultados en su conjunto sugieren que los cuatro microRNAs pueden ser usados como marcadores moleculares en del desarrollo de preeclampsia.

Palabras clave Embarazo; microRNAs; preeclampsia.

ABSTRACT

Introduction Preeclampsia (PE) is the result of poor placentation followed hemodynamic stress which leads to hypertension and proteinuria. MicroRNAs recently have been used as molecular marker in various pathologies associated with inflammatory process.

Objective To determine in serum of patients with preeclampsia development expression of microRNA-153, 183, -200b, and -210.

Material and Methods Peripheral blood was obtained of patients 1) without clinical evidence of PE and without labour (n=15); 2) without clinical evidence of PE and labour (n=15); and 3) with clinical evidences of PE (n=15). The serum was recovered to obtain RNA using TRIZOL method. MicroRNAs expression was performed by RT-PCR using specific primers. The results are presented as mean \pm standard deviation and statistical analysis was performed using the Mann-Whitney test with a significant difference of $p < 0.05$.

Results Blood pressure ($p \leq 0.001$) and gestational age ($p = 0.05$) of patients was statistically significant compared to the control group. The microRNA-153, -183 and -200b was up-regulated, while the microRNA-210 was down-regulated in patients with PE compared with the patients without labor.

Conclusions These results suggest that the four microRNAs can be used as molecular marker in the development of preeclampsia.

Keywords Pregnancy, microRNA, preeclampsia.

INTRODUCCIÓN

La preeclampsia (PE) es la tercera causa de muertes en el mundo y está asociada con los nacimientos prematuros, restricción de crecimiento intrauterino y es un factor de riesgo en la morbilidad y mortalidad materna.¹ La PE se presenta por lo general después de la semana 20 de gestación y es el resultado de la placentación deficiente seguida del estrés hemodinámico lo que conlleva a la hipertensión aguda. Clínicamente la PE se caracteriza por dos eventos fisiológicos 1) elevación de la presión arterial en mujeres previamente normotensas (sistólica > 140 mmHg/diastólica > 90 mmHg), y 2) proteinuria superior a 300 mg en 24 horas.^{1,2} El desorden vascular produce diversas alteraciones en el endotelio vascular e induce la respuesta inflamatoria sistémica.^{3,4} Diferentes pruebas bioquímicas han sido usadas para la detección de la preeclampsia.⁵⁻⁷ Recientemente los microRNAs han sido detectados en tejido placentario^{8,9} y en plasma en diferentes patologías.¹⁰⁻¹² Los microRNAs son secuencias pequeñas (19-25 nucleótidos) no codificantes, están altamente conservadas y regulan diferentes actividades metabólicas,¹³ ejercen efectos en la expresión de los genes al inducir la degradación de proteínas o mediante la metilación,^{14,15} así como en la respuesta inflamatoria.¹⁶⁻¹⁹ El principal objetivo en este estudio fue determinar en suero de pacientes con desarrollo de preeclampsia la expresión de los microRNA-153, -183, -200b, -210.

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención de las muestras

Cinco mililitros de sangre periférica fue obtenida de pacientes 1) sin evidencias clínicas de PE y sin trabajo de parto (TP; n=15); 2) sin evidencias clínicas de PE y con TP (n=15); y 3) con evidencias clínicas de PE (n=15). Al momento de la muestra las pacientes no presentaron evidencias de infección u otras patologías asociadas a la respuesta inflamatoria. En todos los casos se obtuvo el consentimiento informado de acuerdo a los lineamientos aprobados por el comité de investigación y ética institucionales. Las características maternas se muestran en la tabla 1. No existió diferencia significativa entre la edad materna entre los tres grupos. La edad gestacional mostró diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de PE con respecto al grupo sin (p=0.05) y con trabajo de parto (p≤0.001; Tabla 1). La presión sistólica/diastólica del grupo de PE fue estadísticamente significativa con respecto a los grupos control (p≤0.001; Tabla 1).

Obtención del RNA

A partir de 500 µl de plasma se le adicionó el mismo volumen de TRIzol (InvitroGen; Carlsbad, CA) la mezcla fue agitada vigorosamente por 15 seg y se incubaron por 15 min a 30°C. Posteriormente a cada muestra se les añadió 100 µl de cloroformo y se agitaron por 15 seg. e incubadas por 3 min a 30°C. Al término las muestras fueron centrifugadas a 4 000 rpm por 15 min y la fase acuosa fue transferida a un tubo nuevo y se le agregó 1 µl de isopropanol. Las muestras

fueron incubadas por 1 hora a -20°C . Al término de éste tiempo las muestras fueron centrifugadas a 4 000rpm por 30 min. Al pellet se le adicionó 1 ml de etanol al 100% y se agito vigorosamente por 15 seg. y fue centrifugado nuevamente a 4000 rpm por 15 min. El procedimiento se repitió una vez más con etanol al 75%. El RNA fue evaporado toda la noche a temperatura ambiente. El RNA fue hidratado con 20 μl de dietilpirocarbonato (DEPC) y cuantificado por espectrofotometría mediante la relación de absorbencia 260/280.

Condiciones para estandarizar las condiciones de RT-PCR de los microRNAs.

Las temperaturas de alineamiento para la amplificación de PCR de los microRNA-153, -183, -200b, y -210 se realizaron a 56, 58 y 60 $^{\circ}\text{C}$ usando como control de expresión tejido de placenta de paciente sin trabajo de parto. Una porción del cotiledón fue macerado con TRIzol y centrifugado a 12 000 rpm por 10 minutos. La extracción y cuantificación del RNA fue realizado mediante el procedimiento antes descrito.

Síntesis del cDNA

En tubos eppendorf independientes se adicionaron 2.5 μL del RNA de cada una de las muestras y se calentaron a 65°C durante 15 minutos e inmediatamente enfriados en hielo por 5 min. Posteriormente, se adicionó 1 μL de iniciadores específicos (Tabla 1), 10 μL de dNTPs 10 mM (InvitroGen) y 6.5 μL de agua inyectable por cada iniciador la mezcla fue calentada a 65°C por 5 min. Finalmente, a las muestras se les agregó 0.5 μL de enzima retrotranscriptasa (RT-

PCR, cat A1250; Promega Madison WI, USA) y 4 μ L de buffer 5X para obtener un volumen de 20 μ L.

Las secuencias específicas para cada microRNA se muestran en la tabla 2. La mezcla fue incubada por 60 minutos 50°C y finalmente la reacción se inactivó 70°C.

Expresión de los microRNA mediante PCR

A partir del cDNA obtenido se amplificaron los cuatro microRNAs y el microRNA constitutivo mediante PCR. Para la amplificación de dichas secuencias se empleará la siguiente mezcla de reacción: 200 ng de cDNA molde, 2.5 μ L de de buffer 10X, 2 mM de MgCl₂, 2.5 mM de cada uno de los dNTP, 10pM de cada iniciador del microRNA específico (Tabla 3), 2U de Taq polimerasa, ajustando la reacción a 25 μ L con agua para PCR. La secuencia de los iniciadores se muestra en la tabla 2. Los amplificados sometidos en geles de agarosa al 4% a voltaje constante por 40 minutos y las bandas fueron visualizadas en luz UV y las imágenes fueron capturadas usando el sistema fotodocumentador (Gel Doc 2000. Bio-Rad, USA). El perfil de las bandas de los diferentes microRNA fueron determinadas mediante la densidad óptica utilizando el programa ImageJ (NIH; USA).

Análisis estadístico

Las diferencias entre las variables maternas se usó el análisis t-student seguido de la prueba de Mann-Whitney. Los valores son presentados como la media \pm desviación estándar con una diferencia significativa de $p < 0.05$.

RESULTADOS

Estandarización de las condiciones de RT-PCR

La imagen 1 muestra los amplificadores de los microRNA utilizando tejido de placenta de una paciente sin trabajo de parto activo y sin patología obstétrica asociada a procesos inflamatorios. La temperatura de alineamiento para los microRNA-153, -200b y -210 fue de 56°C en tanto que para el microRNA-183 fue de 60°C. El peso molecular para cada uno de los microRNA-153, -183, -200b, -210 fue de 72, 75, 74 y 72 para de bases respectivamente (Figura 1) y corresponden con el análisis bioinformático. Estas condiciones de amplificación fueron usadas para la amplificación de los microRNA de los tres grupos de estudio y en cada caso se incluyó como control positivo el microRNA específico obtenido de placenta.

Perfil de expresión de los microRNAs de los tres grupos de pacientes

Para evaluar el cambio en la expresión de los cuatro microRNAs de las pacientes con trabajo de parto (CTP) y de preeclampsia (PE) se tomó como medida de referencia la detectada en el grupo de pacientes sin trabajo de parto ya que no tienen activada la secreción de la interleucina tipo 1-beta y el factor de necrosis

tumoral tipo alfa (datos no mostrados). En todos los casos, los geles de expresión muestran bandas por arriba de las esperadas y representan la forma inmadura del microRNA, en tanto que la banda por debajo del peso molecular, representa uniones inespecíficas de los nucleótidos.

La figura 2 muestra el aumento en la expresión del microRNA-153 tanto del grupo de pacientes CTP como de PE. La banda que corresponde al miRNA (72 pb) fue cuantificado por densidad óptica (figura 2B). En las pacientes CTP la expresión del microRNA-153 aumentó; sin embargo, no fue estadísticamente significativo con respecto al grupo control (figura 2B). En las pacientes con PE, la expresión del microRNA-153 incremento significativamente 1.2 veces con respecto al grupo sin trabajo de parto ($p < 0.001$; figura 2B).

La figura 3 muestra el aumento en la expresión del microRNA-183 tanto en el grupo CTP como en las de PE. La banda que corresponde al microRNA (75 pb) fue cuantificada por densidad óptica (fig. 3B) la expresión aumento 1.2 y 1.35 en el grupo de pacientes CTP ($p \leq 0.001$) y de PE ($p \leq 0.001$) respectivamente en relación con el grupo STP.

La figura 4 muestra el aumento en la expresión del microRNA -200b, tanto el grupo CTP como de PE. Las pacientes CTP y PE la expresión del microRNA-153 aumentó 1.12 y 1.06 veces respectivamente con respecto al grupo control ($p \leq 0.01$; figura 2B).

La figura 5 muestra la disminución de 1.4 y 1.2 veces la expresión del microRNA-210 tanto en el grupo de CTP como de PE respectivamente con respecto al grupo control ($p \leq 0.001$; figura 5B).

CONCLUSIONES

En este estudio demostramos en pacientes con evidencias clínicas de PE el aumento de los microRNA-153 y 200b y la disminución del microRNA-210 con respecto al grupo de pacientes sin trabajo de parto (control). Consideramos realizar esta comparación ya que existen diferentes evidencias que indican que el proceso inflamatorio regula la expresión de diferentes microRNAs.^{16,17, 20} Estos microRNAs en la placenta están involucrados con la invasividad de las células del sincitiotrofoblasto.²¹

El microRNA-153, está involucrado con el desarrollo placentario y aumenta en patologías asociadas al embarazo.²¹ Nuestro resultado demostró un aumento significativo tanto del microRNA-153 (fig. 2) como del -200b (fig. 4) con respecto a la observada en el grupo control como ha sido reportado en el tejido placentario.⁹

El microRNA-183 está asociado con diferentes tipos de invasividad celular y placentaria.^{22,23} Pineles y cols (2007) reportaron el incremento del microRNA-183 de tres veces en casos con PE y restricción de crecimiento, nuestros resultados demuestran un incremento de 1.35 veces con respecto al grupo STP. La severidad de la restricción intrauterina aumenta la respuesta inflamatoria lo que aumenta la expresión en casos con restricción de crecimiento. El microRNA-210

está asociado con la invasividad de las células del sincitiotrofoblasto y se incrementa su expresión en casos de hipoxia.^{9, 24} Pineles y cols., (2007) reportaron que el microRNA-210 se incrementa hasta 3-veces en pacientes con PE comparados con pacientes con trabajo de parto activo.⁹ Nuestros resultados indican la reducción de su expresión con respecto al grupo sin trabajo de parto ($p \leq 0.001$; figura 4); sin embargo, su expresión aumenta cuando es comparado con el grupo de trabajo de parto activo como previamente ha sido reportado previamente.⁹ En nuestro estudio reportamos la detección del microRNA-153 en suero materno como la detectada en muestras de placenta.^{8,9} Nuestros datos demuestran que la expresión de estos microRNAs son detectados en el plasma de mujeres que han desarrollado preeclampsia y sugieren ser buenos marcadores de diagnóstico en las fases iniciales del desarrollo de la preeclampsia lo que deberá de ser explorado en la siguiente fase de este proyecto.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se desarrollo con fondos federales al Instituto Nacional de Perinatología INPer mediante el proyecto con número de registro 212250-22661 otorgado a HFH. Becario del Instituto en Salud Carlos Slim otorgado a RDGA. Este trabajo fue presentado parcialmente en el 38° Congreso de la Sociedad de Microbiología en Guanajuato, Gto. Junio 23-26, 2013 y obtuvo el primer lugar en el área de Microbiología Médica.

A mis padres y hermana.

A mi tutor y pacientes.

BIBLIOGRAFIA

1. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Preeclampsia. *Lancet* 2005;365-399.
2. Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science* 2005;308:1592-1594.
3. Lee SM., Romero R., Lee YJ., Park IS., Park CW., Yoon BH. Systemic inflammatory stimulation by microparticles derived from hypoxic trophoblast as a model for inflammatory response in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2012;207(4)::337.e1-8. Doi:10.1016/j.ajog2012.06.047.
4. Chang Yin, Fadi N. Salloum and Rakesh C. Kukreja Nitric Oxide Synthase and Heat Shock Protein 70 A novel role of MicroRNA in late preconditioning: up-regulation of Endothelial Circ. Res. 2009;104;572-575
5. Anderson UD., Olsson MG., Kristensen KH., Akerström B., Hansson SR. Biochemical markers to predict preeclampsia. *Placenta* 2012;33:suppl:S42-7.
6. Buhimschi CS, Magloire L, Funai E, Norwitz ER, Kuczynski E, Martin R, Richman S, Guller S, Lockwood CJ, Buhimschi IA. Fractional excretion of angiogenic factors in women with severe preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2006;107(5):1103-1113.
7. Seely E, and Solomon CG, Insulin resistance and its potential in pregnancy-induced hypertension *J Clin Metab* 2003;86(3):2393-2398.
8. Enquobahrie DA., Abetew DF., Sorensen TK., Willoughby D., Chidambaram K., Williams MA. Placental microRNA expression in pregnancies complicated by preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2011;204(2):178.12-21.
9. Pineles BL., Romero R., Montenegro D., Tarca AL., Han YM., Kim YM., Draghici S., Espinoza J., Kusanovic JP., Mittal P., Hassan SS. Distinct subsets of

microRNAs are expressed differentially in the human placentas of patients with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196(3):261.e1-6

10. Guo L, Yang Q, Lu J, Li H, Ge Q, et al. (2011) A comprehensive survey of miRNA repertoire and 39 addition events in the placentas of patients with preeclampsia from high-throughput sequencing. *PLoS ONE* 6(6): e21072. doi:10.1371/journal.pone.0021072

11. Gunel T., Zeybek YG., Akcakaya P., KALElioglu I., Benian A., Ermis H., Aydmli K. Serum microRNA expression in pregnancies with preeclampsia. *Genet Mol Res* 2011; 10(4):4034-4040.

12. Córtes MG., Calin GA. MicroRNA identification in plasma and serum: a new tool to diagnose and minitor diseases. *Expert Opin Biol Ther* 2009;9(6):703-711.

13. Muralimanoharan S., Maloyan A., Mele J., Guo C., Myatt LC., Myatt L. Mir-210 modulates mitochondrial respiration in placenta with preeclampsia. *Placenta* 2012;33:816-823.

14. Wiesen JL., Tomasi TB. Dicer is regulated by cellular stress and interferons. *Mol Immunol* 2009; 46(6):1222-1228

15. Liu J., Valencia-SánchezMA., Hannon GJ., Parker R. MicroRNA-dependent lozalization of targeted mRNAs to mammalian P-bodies. *Nature Cell Biol* 2005; 7:719-723.

16. O'Connell RM., Rao DS., Chaudhuri AA., Baltimore D. Physiological and pathological roles for microRNAs in the immune system. *Nat Rev Immunol* 2010; 10(2):111-122.

17. Oglesby IK., McElvaney NG., Greene CM. MicroRNAs in inflammatory lung disease— master regulators or target practice? *Respiratory Research* 2010a; 11:148. doi <http://respiratory-research.com/content/11/1/48>

18. Filipowicz W., Bhattacharyya SN., Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional gene silencing by microRNAs: are the answers in sight? *Nat Rev Genet* 2008;9:102-114.
19. Urbich C., Kuenbacher A., Dimmeler S. Role of microRNAs in vascular diseases, inflammation and angiogenesis. *Cardiovasc Res* 2008;79:581-588.
20. Perry MM., Moschos SA., Williams AE., Shepherd NJ., Lerner-Svensson HM., Lindsay MA. Rapid changes in MicroRNA-146a expression negatively regulated the IL-1 β -induced inflammatory response in human lung alveolar epithelial cells. *J Immunol* 2008;180:5689-5698.
21. Fu G., Brkie J., Hayder H., Peng C. MicroRNAs in human placental development and pregnancy complications. *Inte J Mol Sci* 2013;14:5519-5544.
22. Chen DB., Wang W. Human placental MicroRNAs and preeclampsia. *Biol Reprod* 2013; 88(5):130 doi:10.1095/biolreprod.113.107805
23. Lowery AJ., Miller N., Dwyer RM., Kerin MJ. Dysregulated miR-183 inhibits migration in breast cancer cells. *BMC Cancer* 2010;21:10:502 doi 10.1186.
24. Chan SY., Loscalzo J. MicroRNA-210: A unique and pleiotropic hypoxamir. *Cell Cycle* 2010;9(6):1072-1083.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Características clínicas de las pacientes.

Característica	Controles sin PE (n=30)		Casos PE (n=15)
	sin TP (n=15)	con TP (n=15)	
Edad materna, años	30.9±6.5	27.3±8.35	28±8.26
Presión arterial sistólica, mm Hg	100±12.0	98.3±10.5	155±11
Presión arterial diastólica, mm Hg	65.7±7.2	65±8.2	106.7±17.6
Edad gestacional, semanas	36.0±4.5	37.0±2.7	33.9±4.3

Los datos se presentan como la media \pm la desviación estándar.

Tabla 2. Secuencia específica de los microRNA para la retrotranscripción.

microRNA	Secuencia 5' a 3'
153	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATAGCUGCU AGUG
183	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCAAACCCA
200b	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACTC ATCA
210	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACTC AGCC

Tabla 3. Secuencia específica de los microRNA para la amplificación por PCR.

microRNA	Secuencia 5' a 3'	Tamaño (pb)
153	CGGCCTTGCATAGTCAC	72
183	CGGCCGACTCTTGAC	75
200b	CGGCCGTAATACTGCCTGG	74
210	CGGCCGCTGTGCGTGT	72

FIGURA 1

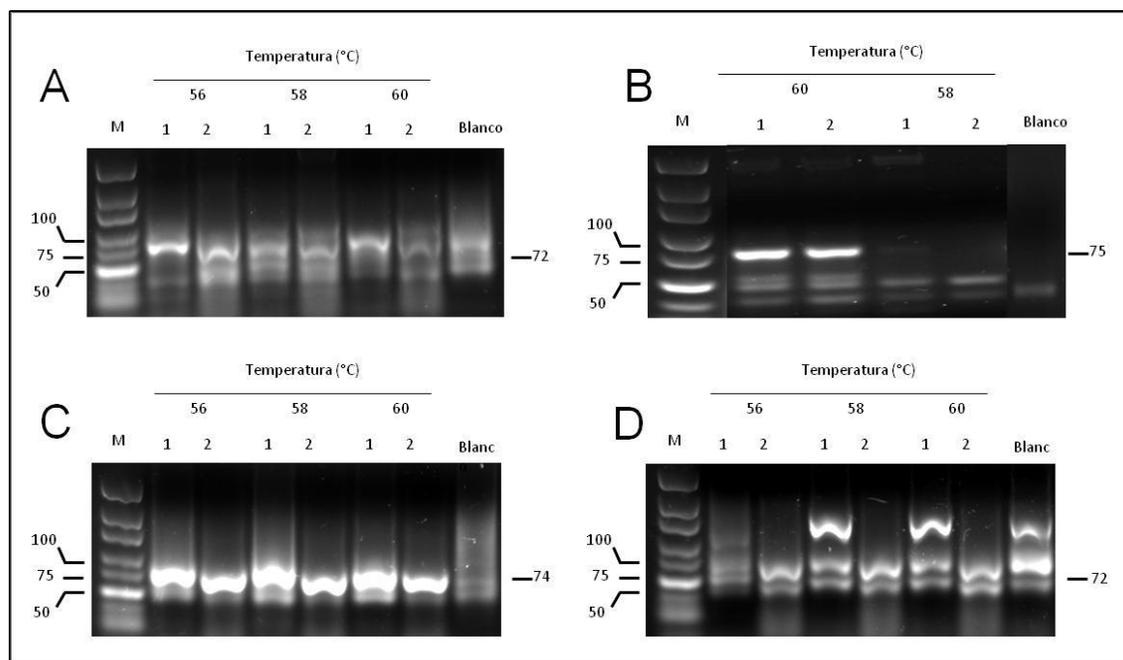


FIGURA 2

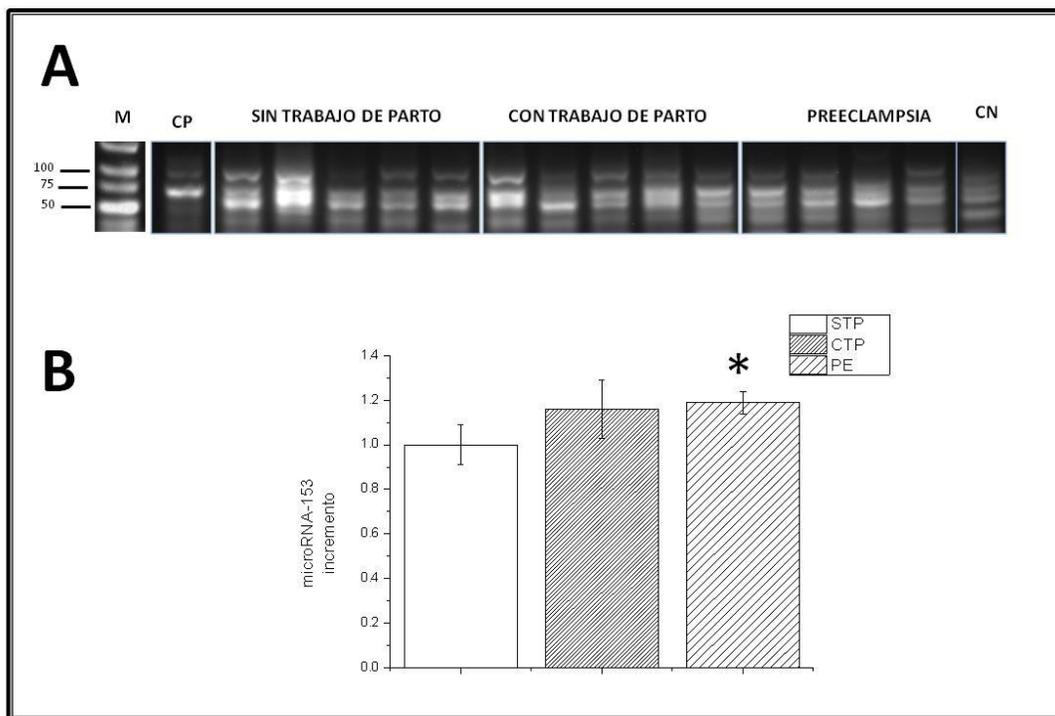


FIGURA 3

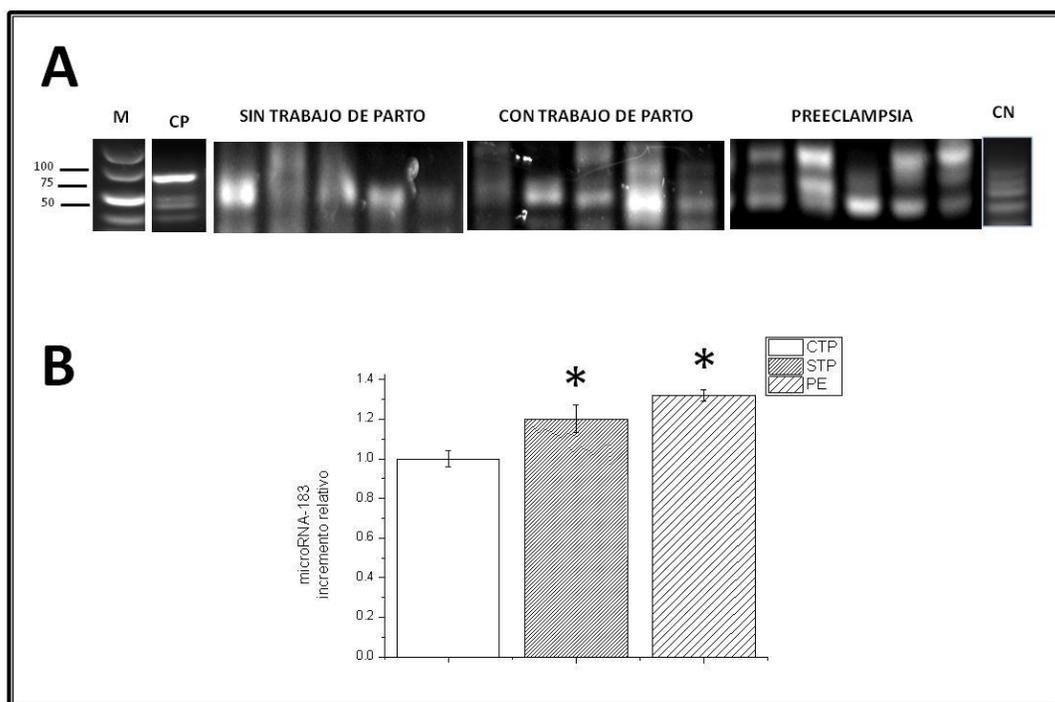


FIGURA 4

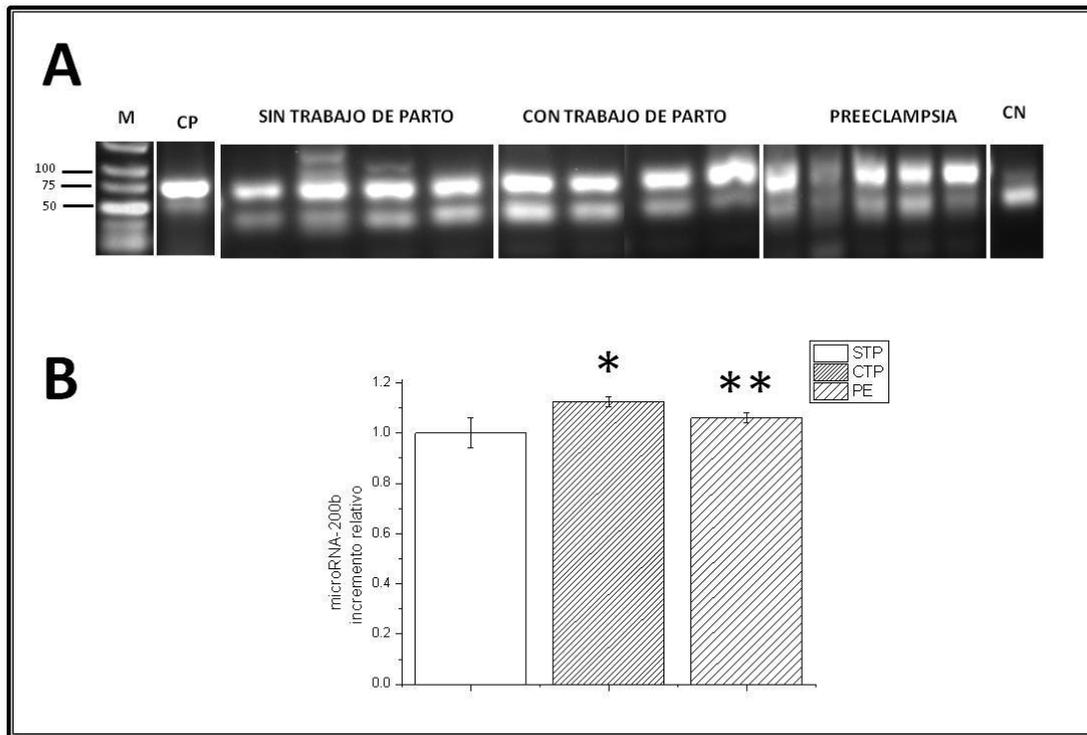
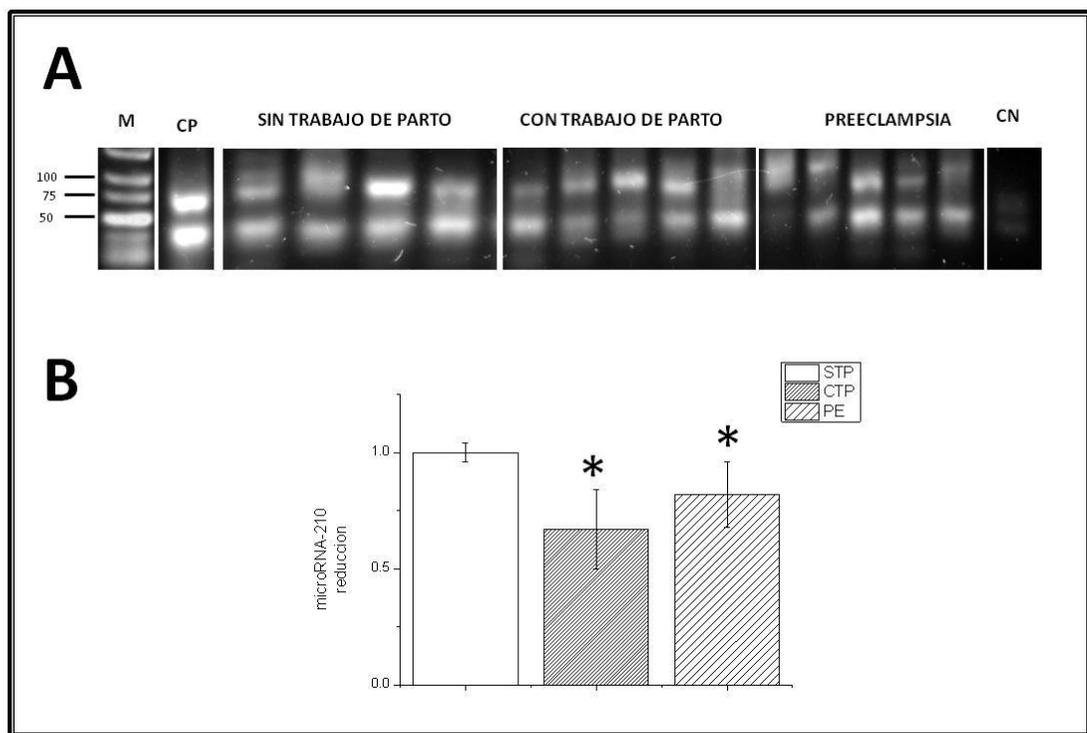


FIGURA 5



PIES DE FIGURAS

Figura 1 Expresión de PCR de los microRNA a diferentes intervalos de temperatura. Se muestra el microRNA-153 (72 pb; A), -183 (75 pb, B), -200b (74 pb; C) y -210 (72 pb; D). Marcador de peso molecular (M), pares de bases (pb).

Figura 2 Expresión del microRNA-153. Se muestra la expresión diferencial entre el grupo de pacientes sin trabajo de parto, con trabajo de parto y de preeclampsia (A), marcador de peso molecular (M), control positivo (CP) y negativo (CN sin cDNA). La cantidad de microRNA se determinó mediante la densidad óptica de la banda con respecto al grupo sin trabajo de parto. Diferencia estadísticamente significativa $p \leq 0.001$

Figura 3 Expresión del microRNA-183. Se muestra la expresión diferencial entre el grupo de pacientes sin trabajo de parto, con trabajo de parto y de preeclampsia (A), marcador de peso molecular (M), control positivo (CP) y negativo (CN sin cDNA). La cantidad de microRNA se determinó mediante la densidad óptica de la banda con respecto al grupo sin trabajo de parto. Diferencia estadísticamente significativa $p \leq 0.001$

Figura 4 Expresión del microRNA-200b. Se muestra la expresión diferencial entre el grupo de pacientes sin trabajo de parto, con trabajo de parto y de preeclampsia (A), marcador de peso molecular (M), control positivo (CP) y negativo (CN sin cDNA). La cantidad de microRNA se determinó mediante la densidad óptica de la banda con respecto al grupo sin trabajo de parto. Diferencia estadísticamente significativa $p \leq 0.01$

Figura 5 Expresión del microRNA-210. Se muestra la expresión diferencial entre el grupo de pacientes sin trabajo de parto, con trabajo de parto y de preeclampsia (A), marcador de peso molecular (M), control positivo (CP) y negativo (CN sin cDNA). La cantidad de microRNA se determinó mediante la densidad óptica de la banda con respecto al grupo sin trabajo de parto. Diferencia estadísticamente significativa $p \leq 0.001$