



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Especialidad en Ginecología y Obstetricia

Instituto Nacional de Perinatología

Isidro Espinosa de los Reyes

**“Expresión de microRNAs asociados al desarrollo de corioamnioititis
en suero materno”**

Tesis

Que para optar por el grado de:

Especialidad en *Ginecología y Obstetricia*

PRESENTA

Dra. Alba Myriam García Rodríguez

M. en C. HÉCTOR FLORES HERRERA

DIRECTOR DE TESIS

Universidad Nacional Autónoma de México

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 asociados al desarrollo de corioamnioitis 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. El desarrollo de la corioamniotitis (CAM) es determinado por los signos y síntomas de infección intrauterina los cuales son clínicamente evidentes en su fase aguda. Aunque se conocen las moléculas inflamatorias relacionadas con el proceso infeccioso en fase activa no se cuenta con marcadores de diagnóstico temprano que logren identificar el desarrollo de la CAM durante la gestación.

Objetivo Cuantificar los niveles de IL-1 β y evaluar la expresión de los microRNA-21, -106, -126 y -146a asociados a la secreción de dicha interleucina.

Material y métodos. A partir de cinco mililitros de sangre periférica de pacientes 1) sin CAM y sin trabajo de parto activo (STP; n=15); 2) sin CAM y con trabajo de parto (CTP; n=15); y 3) con evidencia clínicas de CAM (n=15). El suero fue recuperado para obtener el RNA mediante el método de TRIzol y se sintetizó el cDNA mediante la retrotranscripción. La expresión de los microRNAs fue realizada mediante 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. El desarrollo de CAM incrementa la expresión del microRNA-126 y -146, reduce la expresión del microRNA-21. La secreción de la IL-1 β aumentó significativamente con respecto al grupo de STP ($p=0.002$).

Conclusiones. Estos resultados en su conjunto sugieren que los tres microRNAs pueden ser usados como marcadores moleculares en el desarrollo de la corioamniotitis.

Palabras clave. Corioamniotitis, interleucina 1L- β , microRNA

ABSTRACT

Introduction. Developing chorioamnionitis (CAM) is determined by the signs and symptoms of intrauterine infection which are clinically evident in its acute phase. Although known inflammatory molecules related to the infection process in active phase have not early diagnostic markers identify achieve CAM development during gestation.

Objective: Quantify levels of IL-1 β and evaluating the expression of the microRNA-21, -106, -126 and-146a associated with the secretion of this interleukin.

Material and methods Five milliliters of peripheral blood of patients 1) without CAM and without active labor (STP; n=15), 2) no CAM and AL (CTP; n=15), and 3) with clinical evidence of CAM (n=15). The serum was recovered to obtain RNA using TRIzol method and cDNA was synthesized by reverse transcription. MicroRNA expression was performed by 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 CAM development increases expression of microRNA-126 and -146, reduces expression of microRNA-21. The secretion of IL-1 β significantly increased relative to STP group ($p=0.002$).

Conclusions These results suggest that the three microRNA can be used as molecular marker in the development of chorioamnionitis.

Keywords Chorioamnionitis, interleukin 1- β , microRNA

INTRODUCCIÓN

La corioamnioitis (CAM), se define como la inflamación aguda de las diferentes poblaciones celulares (amnios, corion y decidua) que componen a las membranas fetales humanas y al tejido placentario.^{1,2} La CAM explica hasta el 70% de los partos prematuros con ruptura de membranas o trabajo de parto espontáneo y el 13% de los nacidos a término.³ Los principales microorganismos asociados como agentes causales en el desarrollo de la corioamnioitis y que han sido aislados con mayor frecuencia son bacterias gram-positivas (*Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*), bacterias gram-negativas (*Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Chlamydia trachomatis*) y bacterias atípicas (*Ureaplasma urealyticum*).⁴⁻⁷

El proceso infeccioso activa la respuesta inmunológica innata la cual comprende el tejido epitelial, células profesionales (macrófagos, monocitos, células *natural killer* NK, neutrófilos).^{8,9} El reconocimiento de las bacterias activa la secreción masiva de diversas citocinas quimiotácticas (Interleucina tipo 6 y 8) e inflamatorias (Interleucina-1 β , y el factor de necrosis tumoral tipo alfa; TNF α), las cuales son las responsables de amplificar la respuesta inmunológica y la activación para la fagocitosis y la activación de los linfocitos T.⁸⁻¹⁰

En este escenario de regulación inflamatorio/anti-inflamatorio se ha demostrado la participación de una clase particular de RNA denominados microRNA como moduladores de la respuesta inflamatoria inhibiendo a los factores encargados de la diferenciación y activación de las células inmunológicas o inhibiendo diferentes tipos de RNA.¹⁰⁻¹²

Aunque se conocen las moléculas inflamatorias y de fase aguda relacionadas con el proceso infeccioso en fase activa ¹³ , actualmente no se cuenta con marcadores de diagnóstico temprano que logren identificar el desarrollo de la corioamnioitis durante la gestación, por lo que el principal objetivo en este estudio fue determinar en suero de pacientes con desarrollo de CAM la expresión de los microRNA-21, -106, -126 y -146a así como la cuantificación de la IL-1 β .

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención de las muestras

Cinco mililitros de sangre periférica fue obtenida de pacientes 1) sin evidencias clínicas de CAM y sin trabajo de parto (STP; n=15); 2) sin evidencias clínicas de CAM y con trabajo de parto (CTP; n=15); y 3) con evidencias clínicas de CAM (n=15). El diagnóstico de corioamnioitis se basa en la presencia de dos ó más de los siguientes signos clínicos: fiebre (mayor de 38.3°C), taquicardia materna (> 100 latidos por minuto), taquicardia fetal (>160 latidos por minuto), líquido amniótico fétido o purulento, dolor o sensibilidad uterina; leucocitosis (mayor de 15 000/mm³), bandemia (>6%), niveles elevados de proteína C reactiva (> 2mg/dL). Al momento de la muestra las pacientes no presentaron evidencias clínicas de 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 se encontraron diferencia significativa entre la edad materna de los tres grupos. La edad gestacional mostró diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de CAM con respecto al grupo sin trabajo de parto y con trabajo de parto ($p \leq 0.001$; Tabla 1). La confirmación de la CAM se evaluó por histología de las membranas fetales, cordón umbilical y placenta.

Obtención del RNA

A partir de 500 μ l 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 4 000 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 espectrofotometria 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 microRNAs-21, 106, -126, y -146 se realizaron a 56, 58 y 60°C para el alineamiento de PCR usando como control de expresión tejido de neural (microRNA-21 y -106), células leucémicas (microRNA-126) y tejido cardiaco (microRNA-146). Una porción de cada tejido 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 1µL 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; cat A1250; Promega Madison WI, USA) y 4 µL de buffer 5X para obtener un volumen de 20 µL. La mezcla anterior se incubará durante 1 hora a 50°C y finalmente la reacción se inactivará a 70°C.

Expresión de los microRNA mediante PCR

A partir del cDNA obtenido se amplificaron los cuatro microRNA y el microRNA constitutivo mediante PCR. Para la amplificación de dichas secuencias se empleó la siguiente mezcla de reacción: 200 ng de cDNA molde, 2.5µL de buffer 10X, 2 mM de MgCl₂, 2.5 mM de cada uno de los dNTP, 10pM de cada iniciador, 2U de Taq polimerasa, ajustando la reacción a 25 µL con agua para PCR. La secuencia de los iniciadores se muestran 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 óptico a utilizando el programa ImageJ (NIH; USA).

Cuantificación de IL-1β

Para la determinación de la concentración de IL-1 β (Duoset DY201, R&D Systems) en el plasma se utilizó el ensayo inmuno enzimático tipo sándwich (ELISA) de acuerdo a las recomendaciones de la casa comercial. Para la curva estándar se incluyeron siete puntos con un rango de 250 a 3.90 pg/mL. Se determinó la densidad óptica a una longitud de 450nm.

Análisis estadístico

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

RESULTADOS

Evidencias histológicas de las pacientes con corioamnioitis

La figura 1 muestra las características morfológicas de las membranas fetales, cordón umbilical y de la placenta de pacientes con desarrollo de CAM y de pacientes sin trabajo de parto (STP). Se observa el desprendimiento de la región del amnios y de la coriodecidua así como un incremento en el infiltrado tanto en las membranas fetales (fig. 1A) como en la placenta (fig. 1C) de las pacientes con evidencias clínicas de CAM con respecto al grupo control (fig. 1A' - C').

Estandarización de las condiciones de RT-PCR

La figura 2 muestra los amplificadores de los microRNAs en cada una de las temperaturas de alineamiento, siendo a 58°C la temperatura óptima para los microRNA-21, -126 y -146; en tanto que para el microRNA-106 fue de 60°C. El peso molecular para cada uno de los microRNA fue de 71, 70, 72 y 74 pares de bases respectivamente y corresponde con el estimado por el análisis bioinformático. Estas condiciones de temperatura de amplificación fueron usadas para evaluar la expresión de los microRNA de los tres grupos de estudio y en cada caso se incluyó como control positivo el cDNA correspondiente.

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 corioamnioitis (CAM) 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 citocinas inflamatorias. En todos los casos, los geles de expresión muestran bandas por arriba de

las esperadas y representan la forma inmadura del microRNA.

La figura 3 muestra la disminución significativa en la expresión del microRNA-21 tanto en el grupo de pacientes CTP como en las pacientes con CAM. La banda que corresponde al microRNA (72 pb) fue cuantificado por densidad óptica (figura 2B). En las pacientes CTP la expresión del microRNA-21 disminuyó significativamente ($p \leq 0.001$; figura 3B). La expresión del microRNA-21 en las pacientes con CAM, disminuyó significativamente 1.3 veces con respecto al grupo STP ($p < 0.05$; fig. 3B).

La figura 4 muestra el perfil de expresión del microRNA-106 en las pacientes CTP y de CAM. La banda de 70 pb fue analizada por densidad óptica (fig. 4B). El perfil de expresión tanto de las en las pacientes CTP como el de CAM aumentó 1.1 y 1.07 respectivamente; sin embargo, no se observó una diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo STP ($p = 0.6$; fig. 4B).

La figura 5 muestra el perfil de expresión del microRNA-126 en las pacientes CTP y de CAM. La banda de 72 pb fue analizada por densidad óptica (fig. 5B). El perfil de expresión aumentó significativamente 1.2 y 1.3 respectivamente en el grupo CTP y en el grupo CAM con respecto al grupo STP ($p \leq 0.001$; fig. 5B).

La figura 6 muestra el perfil de expresión del microRNA-146 en las pacientes CTP y de CAM. La banda de 74 pb fue analizada por densidad óptica (Fig. 6B). El perfil de expresión disminuyó para el grupo CTP ($p \leq 0.001$) y aumentó significativamente para las

pacientes con CAM ($p=0.05$).

Cuantificación de IL-1 β .

La figura 7 muestra la secreción de la IL-1 β en los tres grupos de estudio. Las pacientes CTP y de de CAM incrementaron 1.8 ($p=0.014$) y 2.8 ($p=0.02$) veces respectivamente la secreción de IL-1 β con respecto a las pacientes STP.

CONCLUSIONES

En nuestro estudio reportamos la detección de los cuatro microRNAs en el suero materno como ha sido detectado en diferentes patologías.¹⁴⁻¹⁶ Nuestros resultados demuestran que en pacientes con evidencias clínicas de CAM en las cuales se incrementa la concentración de IL-1 β el aumento significativo en la expresión del microRNA-126 y el -146 con respecto a las pacientes STP. Perry y colaboradores (2008) encontraron una reducción importante en la expresión del microRNA-146 inducida por el aumento en la IL-1 β .¹⁷ De manera interesante la respuesta inflamatoria reduce la expresión del microRNA-21; sin embargo, al compararse con respecto al grupo CTP se observa un incremento (fig. 3B). El microRNA-106 no cambia con respecto al proceso infeccioso. Nuestros datos sugieren que el aumento en la expresión de los microRNA-126 y 146 y la disminución del microRNA-21 pueden ser utilizados como marcadores de referencia en respuesta a un proceso infeccioso. El tener marcadores moleculares ayudaría a disminuir efectos adversos en el desarrollo neurológico de los recién nacidos provenientes de madres con infección intrauterina.^{18,19}

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se desarrolló con fondos federales al Instituto Nacional de Perinatología INPer mediante el proyecto con número de registro 212250-22661 otorgado a HFH. Este trabajo fue presentado parcialmente en el 38° Congreso de la Sociedad de Microbiología en Guanajuato, Gto. Junio 23-26, 2013.

BIBLIOGRAFÍA

1. Goldman AS, Schmalstieg FC. The pathogenesis of chorioamnionitis. *J Pediatrics* 2008; 3-4.
2. Hecht JL, Onderdonk A, Delaney M, Allred EN, Kliman HJ, Characterization of chorioamnionitis in 2nd-trimester C-section placentas and correlation with microorganism recovery from subamniotic tissues. *Pediatr Developm Pathol.* 2008; 11:15-22.
3. Rouse DJ, Landon M, Leveno KJ. The Maternal-Fetal medicine units cesarean registry: chorioamnionitis at term and its duration-relationship to outcomes. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:211.
4. Parry S, Strauss JF. Premature rupture of the fetal membranes. *N England J Med.* 1998;338(10): 663-70.
5. Perni SC, Vardhana S, Korneeva I, Tuttle SL, Paraskevas LR, Chasen ST, Kalish RB., Witkin SS. *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in mid trimester amniotic fluid: Association with fluid cytokine levels and pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:1382-6.
6. DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, Kusanovic JP, Bik EM, Relman DA. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labour: A molecular and culture-based investigation. *PLOS ONE.* 3(8): e3056 doi:10.1371/journal.pone.0003056.
7. Asindi AA, Archibong EI, Mannan NB. Mother-infant colonization and neonatal sepsis in prelabour rupture of membranes. *Saudi Med J* 2002; Vol. 23 (10): 1270-4.

8. Reiman M, Kujari H, Ekholm E, Lapinleimu H, Lehtonen L. Interleukin-6 polymorphism is associated with chorioamnionitis and neonatal infections in preterm infants. *J Pediatr* 2008; 153:19-24.
9. Splichal I, Trebichavsky I. Cytokines and other important inflammatory mediators in gestation and bacterial intraamniotic infection. *Folia Microbiol.* 2001; 46(4):345-51.
10. Flores-Herrera H, García-López G, Díaz NF, Molina-Hernández A, Osorio-Caballero M, Soriano-Becerril D, et al. An experimental mixed bacterial infection induced differential secretion of proinflammatory cytokines (IL-1 β , TNF α) and proMMP-9 in human fetal membranes. *Placenta* 2012;30:271-7.
10. Córtes MG, Calin GA. MicroRNA identification in plasma and serum: a new tool to diagnose and monitor diseases. *Expert Opin Biol Ther* 2009;9(6):703-11.
11. 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):111-22.
12. 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>
13. Wiwanitkit V. Maternal C reactive protein for detection of chorioamnionitis: An Appraisal. Review. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2005; 13(3): 179-81.
14. 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.
15. 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

16. Montenegro D, Romero R, Pineles BL, Tarca AL, Kim YM, Draghici S, et al. Differential expression of microRNAs with progression of gestation and inflammation in the human chorioamniotic membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197(3):1-13.

17. Perry MM, Moschos SA, Williams AE, Shepherd NJ, Larner-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;180:5689-98.

18. Huleihel M, Golan H, Hallak M. Intrauterine infection/inflammation during pregnancy and offspring brain damage: possible mechanisms involved. *Reprod Biol Endo* 2004; 2:17

19. Miyazaki K. Impact of subclinical chorioamnionitis on maternal and neonatal outcomes. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2007; 86: 191-7.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Características clínicas de los grupos de estudio.

Característica	Controles sin CAM (n=30)		Casos CAM (n=15)
	sin TP (n=15)	con TP (n=15)	
Edad materna, años	30±6.5	27.3±8.4	28.4±8.1
Edad gestacional, semanas	36.1±4.5	37.9±2.7	27.9±5.7

FIGURA 1

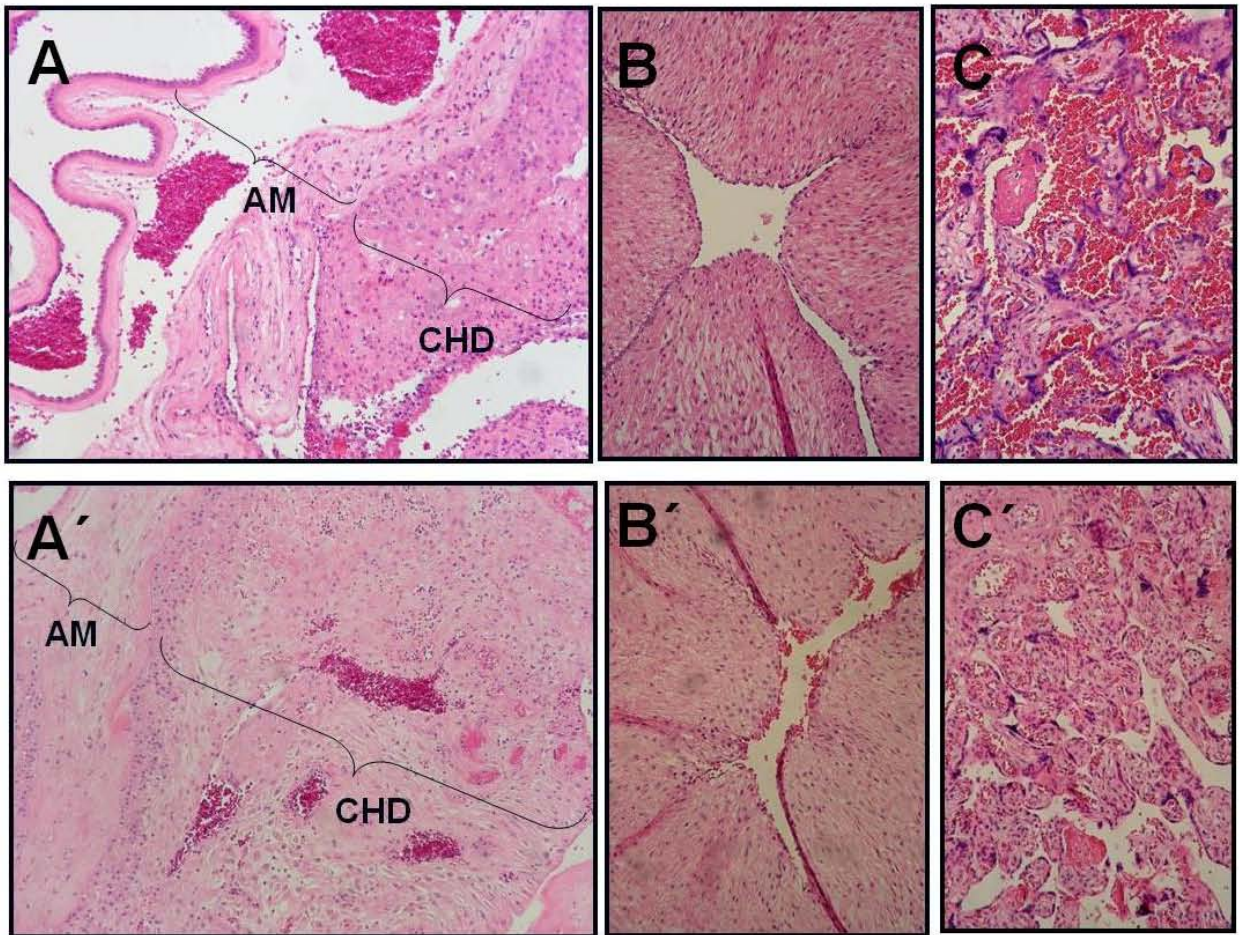


Tabla 2. Secuencia específica de los microRNA para la retrotranscripción.

microRNA	Secuencia 5' a 3'
21	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACG ACACAAC
106	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACTC CATC
126	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACTT ACGC
156a	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACTC AGCC

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

microRNA	Secuencia 5' a 3'	Tamaño (pb)
21	CCGGCCGATCGAATAG	71
106	CCGGCCGTTTTACG	70
126	GCCGAGCATGGCTCTC	72
156a	GTGCAGGGTCCGAGGT	74

FIGURA 2

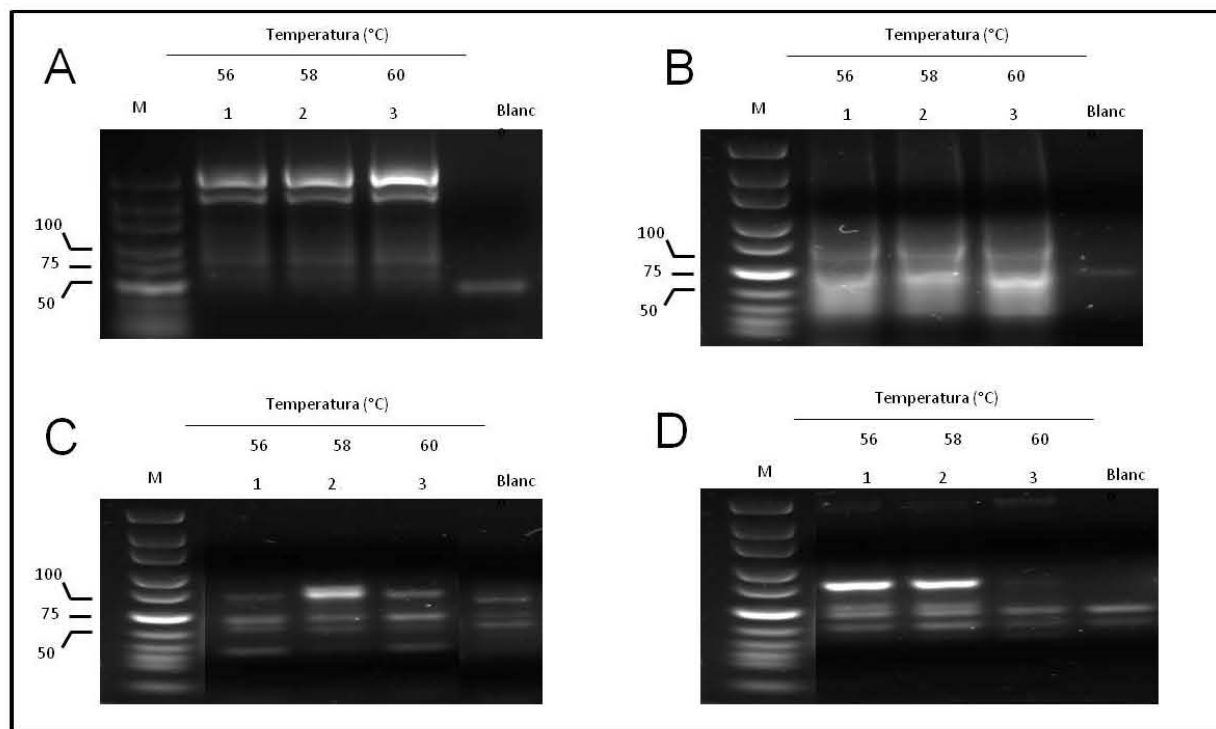


FIGURA 3

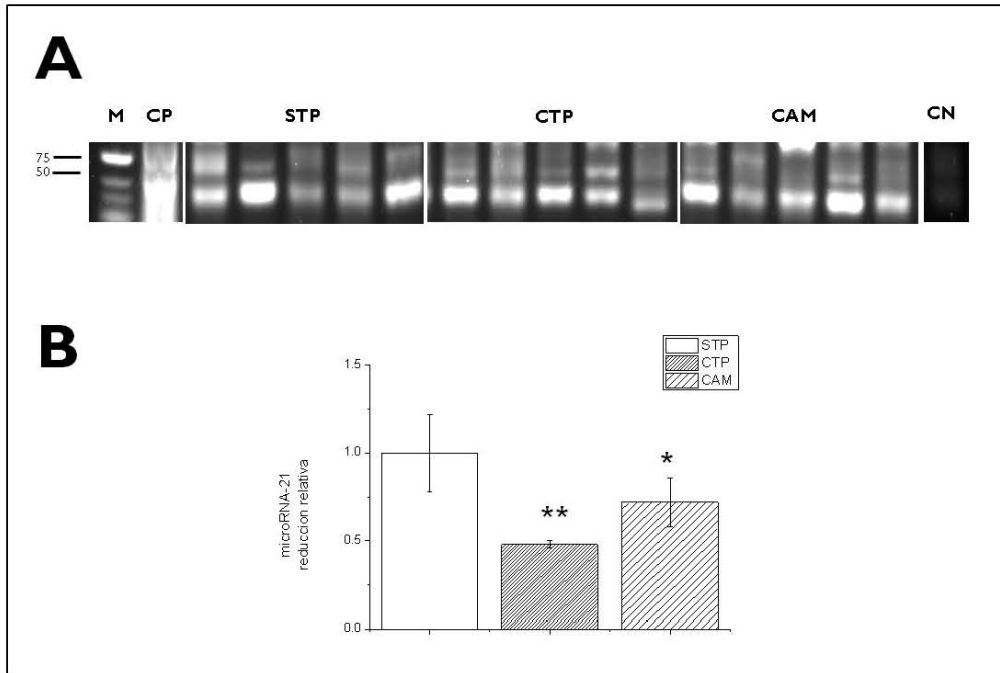


FIGURA 4

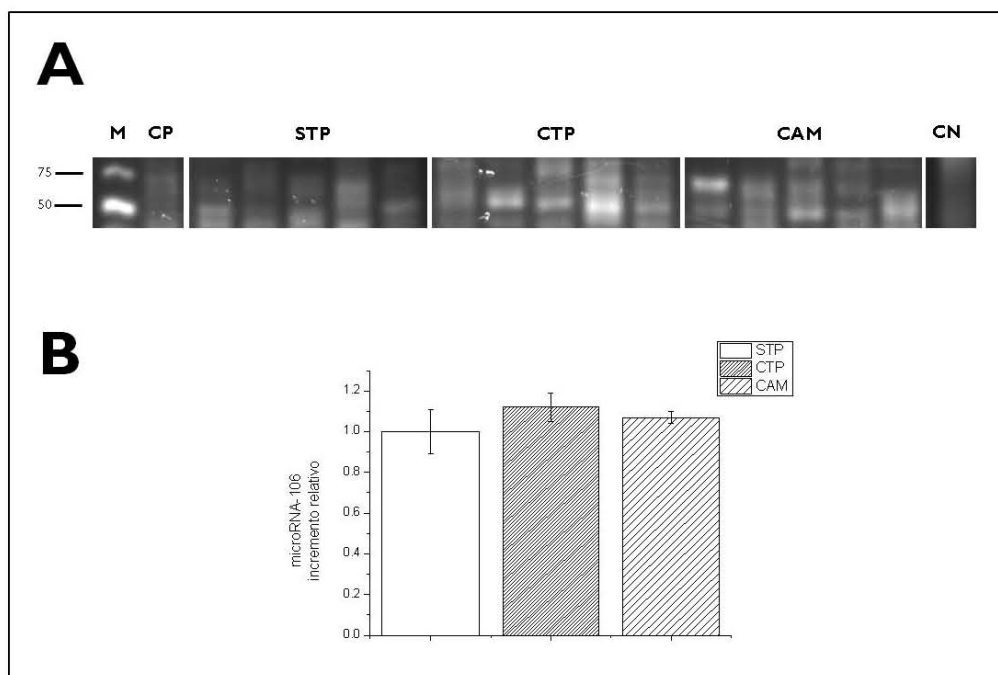


FIGURA 5

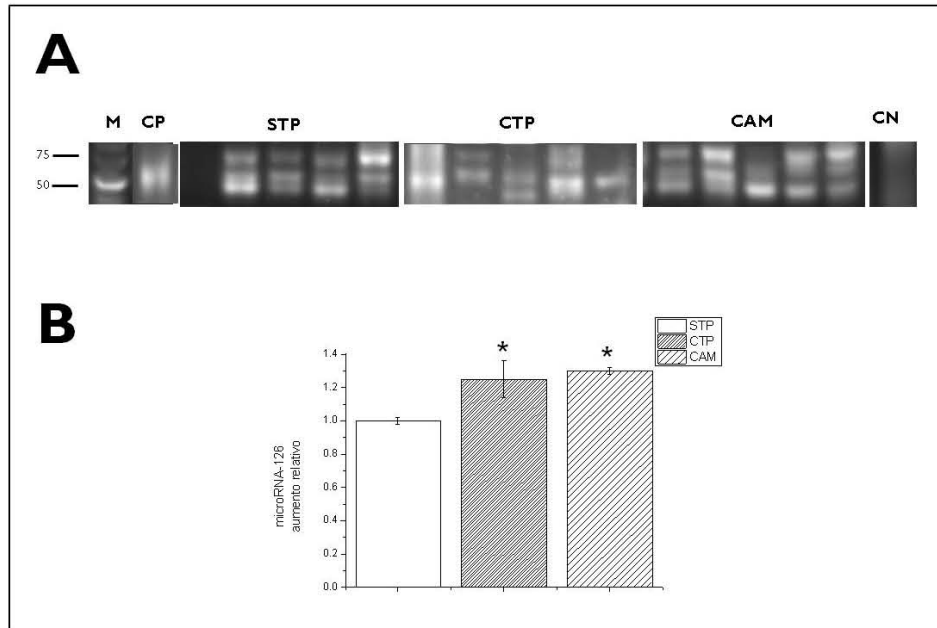


FIGURA 6

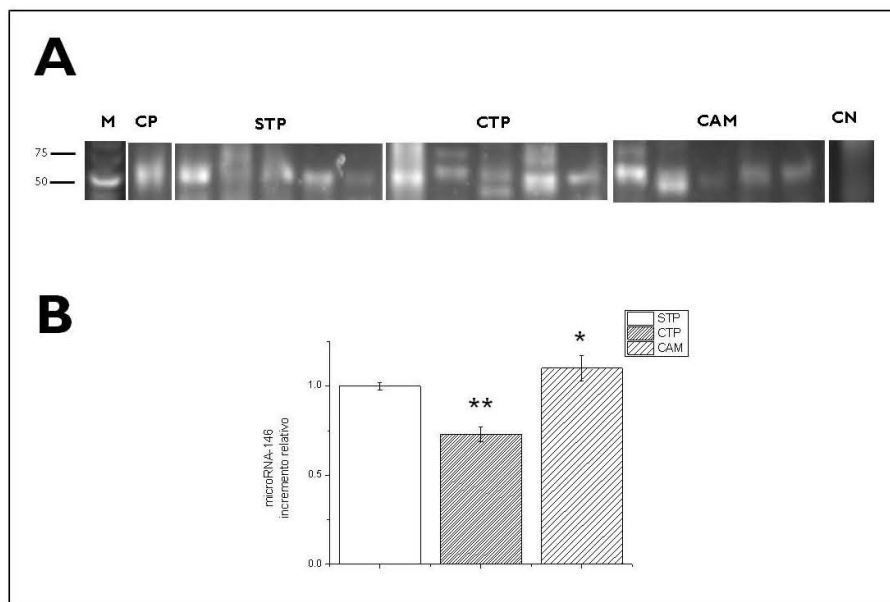
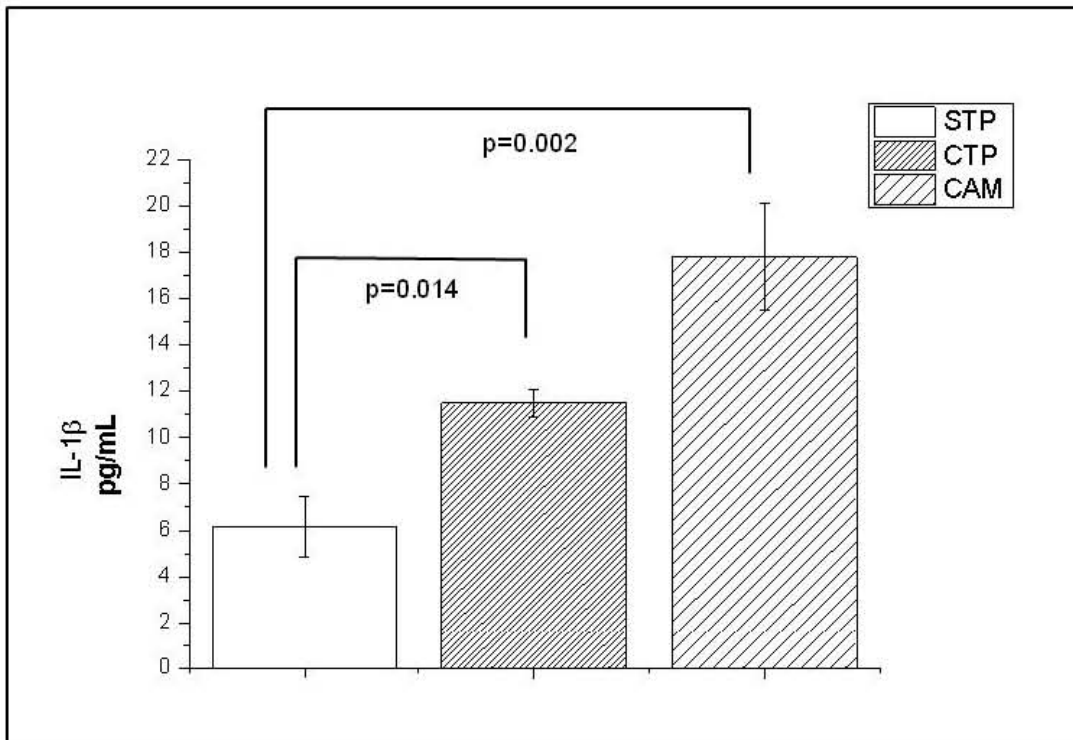


FIGURA 7



PIES DE FIGURAS

Figura 1 Imagen representativa. Membranas fetales (A; 10X), cordón umbilical (B; 20X) y placenta (C; 20X) con desarrollo de corioamnioitis y de membranas fetales (A'; 10X), cordón umbilical (B'; 20X) y placenta (C'; 20X) con trabajo de parto. Epitelio amniótico (AM), y coriodecidua (CHD).

Figura 2 Expresión de PCR de los microRNA a diferentes intervalos de temperatura. microRNA-21 (71 pb; A), -106 (70 pb, B), -126 (72 pb; C) y 146 (74 pb; D). Marcador de peso molecular (M), pares de bases (pb).

Figura 3 Expresión del microRNA-21. 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; tejido neural) 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 entre STP vs CTP ($p \leq 0.001$) y STP vs CAM ($p \leq 0.05$).

Figura 4 Expresión del microRNA-106. 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; tejido neural) 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 $p=0.06$

Figura 5 Expresión del microRNA-126. 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; tejido neural) 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 entre STP vs CTP ($p \leq 0.001$) y STP vs CAM ($p \leq 0.001$).

Figura 6 Expresión del microRNA-146. 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; tejido neural) 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 entre STP vs CTP ($p \leq 0.001$) y STP vs CAM ($p = 0.05$).

Figura 7. Secreción de la IL-1 β de los tres grupos de estudio. Diferencia estadísticamente significativa entre STP vs CTP ($p = 0.014$) y STP vs CAM ($p = 0.002$).