



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO

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

*Expresión diferencial de tres microRNA asociados a restricción
de crecimiento intrauterino en pacientes con preeclampsia*

T E S I S

Que para obtener el título de:

ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

P R E S E N T A

LUCIA ITZEL VAZQUEZ FERRERO

DR. TOMAS HERRERIAS CANEDO

Profesor titular del curso en especialización en
ginecología y obstetricia

M en C. HÉCTOR FLORES HERRERA

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA



México, D.F.

2015



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

TÍTULO DE LA TESIS "*Expresión diferencial de tres microRNAs asociados a restricción de crecimiento intrauterino en pacientes con preeclampsia*"



Dr. Enrique Alfonso Gómez Sánchez

Director de Enseñanza
Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"



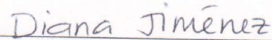
Dr. Tomás Herrerías Canedo

Profesor Titular del Curso en Especialización en Ginecología y Obstetricia
Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"



M en C. Hector Flores Herrera

Director de Tesis
Investigador en Ciencias Médicas.
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.
Sistema Nacional de Investigadores (SNI)-1
Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"



Dra. Diana Jiménez González

Asesor metodológico
Subespecialista en Medicina Materno Fetal

Expresión diferencial de tres microRNA asociado a restricción de crecimiento intrauterino en pacientes con preeclampsia

Vazquez – Ferrero LU ¹., Flores-Herrera H ²., Jimenez- Gonzalez D³.

¹ Médico Residente de la Especialidad de Ginecología y Obstetricia, Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”

² Investigador en ciencias médicas; Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”

³ Subespecialista en Medicina Materno Fetal.

Correspondencia:

Lucia Itzel Vazquez Ferrero, MR.

Montes Urales 800, Colonia Lomas de Virreyes, cp 11000

México D.F

Correo electrónico: ferreroitzel@hotmail.com

INDICE

1. RESUMEN	5
2. ABSTRACT	7
3. INTRODUCCIÓN	9
4. MATERIAL Y MÉTODOS	13
5. RESULTADOS	16
6. DISCUSIÓN	19
7. CONCLUSIONES	20
8. BIBLIOGRAFÍA	21
9. TABLAS Y FIGURAS	24

RESUMEN

Introducción

La preeclampsia es una de las enfermedades más frecuentes y una de las causas principales de morbi-mortalidad materna y fetal. La evidencia demuestra que la preeclampsia (PE) y la RCIU comparten características patológicas similares. Se estima que 1 de cada 5 casos de preeclampsia se acompaña de alteraciones en el crecimiento fetal. Uno de los retos diagnósticos actuales es la falta de tablas de peso personalizadas, que podrían detectar a los verdaderos restringidos.

Objetivo

El objetivo en este estudio fue determinar en suero de pacientes con desarrollo de preeclampsia que presentaron RCIU la expresión de tres microRNA-141, -183, -210.

Material y Métodos

Cinco mililitros de sangre periférica fue obtenida de pacientes 1) sin evidencias clínicas de PE y sin trabajo de parto (STP); (n=7) sin evidencias clínicas de PE y con TP (n=8); y 3) con evidencias clínicas de PE (n=20). Se obtuvo 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

Los principales hallazgos en este estudio fueron: 1) el microRNA 141 y -210 aumentaron en las pacientes con restricción del crecimiento intrauterino; 2) el perfil de expresión del microRNA-183 no varía en los casos con y sin evidencias de crecimiento intrauterino; 3) la expresión del microRNA-183 aumenta significativamente en los casos de preeclampsia con y sin restricción del crecimiento intrauterino con respecto al grupo de pacientes con trabajo de parto.

Conclusión

La expresión diferencial de los microRNA-141 y 210 aumentaron significativamente en los pacientes con evidencias clínicas de restricción intrauterino con respecto a las pacientes sanas.

Palabras clave. Preeclampsia, Restricción del crecimiento intrauterino, microRNA.

ABSTRACT

Introduction

Preeclampsia is one of the most common diseases and a major cause of morbidity and maternal and fetal mortality. Evidence shows that preeclampsia and IUGR share similar pathological features. It is estimated that 1 in 5 cases of preeclampsia is accompanied by alterations in fetal growth. One of the current challenges is the lack of diagnostic tables custom weight, which could detect the true restricted.

Objective

The main objective in this study was to determine serum of patients with preeclampsia develop IUGR presenting the expression of three microRNA-141, -183, -210.

Material and Methods

Five milliliters of peripheral blood was obtained from patients 1) without clinical evidence of PE without labor (STP), (n= 7) without clinical evidence of PE and TP (n = 8), and 3) with clinical evidence of PE (n = 20). The serum was recovered to obtain RNA using TRIzol method. The expression of microRNAs was performed by RT-PCR with specific primers. The results are presented as the mean \pm standard deviation and statistical analysis was performed using the Mann-Whitney test with a significant difference of $p < 0.05$.

Results

The main findings in this study were: 1) the microRNA 141 and -210 increased in

patients with intrauterine growth restriction; 2) the expression profile of microRNA-183 is unchanged in patients with and without evidence of intrauterine growth; 3) the expression of microRNA-183 increases significantly in cases of preeclampsia with and without IUGR group compared to patients in labor.

Conclusion

The differential expression of the microRNA-141 and 210 were significantly increased in patients with clinical evidence of intrauterine restriction with respect to healthy patients.

Keywords. Pre eclampsia, intrauterine growth restriction, microRNA.

INTRODUCCIÓN

La preeclampsia (PE) es una de las enfermedades más frecuentes y una de las causas principales de morbi-mortalidad materna y fetal. El 10% por ciento de las mujeres tienen elevación de la presión arterial durante el embarazo y del 2 al 8% de los embarazos integran el diagnóstico de preeclampsia (1). En México constituye una de las principales causas de muerte materna (34%) (2); en el Instituto Nacional de Perinatología se observó una prevalencia de preeclampsia de 7.03% durante el periodo comprendido entre enero de 2008 a diciembre de 2013 (3).

La preeclampsia se define como la aparición de hipertensión durante el embarazo acompañada de proteinuria significativa después de las 20 semanas de embarazo (2).

Durante el embarazo normal, el citotrofoblasto invade el tercio interno del miometrio ocasionando que las arterias espirales pierdan el endotelio vascular y la mayor parte de sus fibras musculares. De esta manera, las arterias se convierten en vasos de menor resistencia y se tornan insensibles a las sustancias vasoconstrictoras. Una de las teorías de preeclampsia propone la invasión defectuosa de las arterias espirales por las células del citotrofoblasto, lo que ocasiona el aumento de la resistencia arterial uterina con una mayor sensibilidad a la vasoconstricción conduciendo a la isquemia crónica y el estrés oxidativo. Esta isquemia placentaria crónica puede causar complicaciones fetales, incluyendo la restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) y la muerte in útero. (4,5).

La evidencia demuestra que la preeclampsia y la RCIU comparten características patológicas similares. Tal evidencia sugiere que estas 2 condiciones pueden estar relacionadas y tienen mecanismos patogénicos similares. Se estima que 1 de cada 5 casos de preeclampsia se acompaña de alteraciones en el crecimiento fetal.

La restricción del crecimiento intrauterino se define como la incapacidad de un feto de alcanzar el potencial de crecimiento genéticamente establecido. El diagnóstico de las alteraciones en el crecimiento fetal se sospecha cuando el peso fetal estimado por ultrasonido queda por debajo de un umbral dado, más comúnmente el percentil 10. (6,7) Dicha complicación llega a afectar al 15% de los embarazos y resulta de especial relevancia porque los recién nacidos con RCIU que sobreviven al período intrauterino tienen un mayor riesgo de desarrollar complicaciones neonatales, alteraciones en el neurodesarrollo y síndrome metabólico en la vida adulta.(8)

Actualmente, las alteraciones en el crecimiento fetal se pueden detectar por el cálculo de peso por ultrasonido prenatal; cuando es menor al 10% se considera anormal. De estos fetos, aproximadamente el 70% serán fetos pequeños para edad gestacional, sin alteraciones en el flujo vascular medido por ultrasonido doppler y sin riesgos de eventos adversos, ubicados únicamente en el límite menor del peso neonatal. El 30% restante, tendrá restricción del crecimiento y estará en riesgo de tener un resultado obstétrico y neonatal adverso.

Uno de los retos diagnósticos actuales es la falta de tablas de peso personalizadas, que podrían detectar a los verdaderos restringidos. Aunque han sido propuestas por diversos autores, resulta compleja su implementación porque requieren de ultrasonidos seriados, que en nuestro medio, pudieran resultar poco prácticos y costosos. Por otro lado, muchas las tablas actuales de peso fetal y neonatal están basadas en población anglosajona y oriental, mismas que no corresponden con la población latinoamericana. (7)

Con el fin de enfrentar los retos diagnósticos ya mencionados han surgido algunos marcadores bioquímicos que pueden orientar al clínico respecto a la posibilidad de RCIU, por ejemplo, se ha analizado la relación entre la alteración de los marcadores de primer trimestre y RCIU. Aunque estos hallazgos parecen prometedores, todavía no contamos con un marcador adecuado que pueda funcionar como coadyuvante en el diagnóstico de RCIU.(7)

Es bien conocido que las células del trofoblasto de la placenta son el principal ejecutor de los comportamientos biológicos de la placenta. Además, la invasión, proliferación , y la capacidad de apoptosis de trofoblasto son factores clave para el establecimiento, mantenimiento y terminación oportuna de los embarazos. Recientemente se han detectado miRNA en tejido placentario y plasma que se elevan en diferente patologías. (12)

Los microRNAs (miRNAs) son moléculas de ARN no codificantes cortos que regulan la expresión génica a nivel postranscripcional y juegan un papel central mediante la unión a los genes diana.(11) Los miRNA son indispensables para

regular varias funciones celulares clave, incluyendo la migración celular, invasión y crecimiento,(13) la expresión de miRNA es específica para cada tejido se han observado ciertos miRNAs se expresan abundante y específicamente en el placenta, los cuales se consideran cruciales para el desarrollo de la embriogénesis temprana. (14) Por lo tanto , sospechamos que la expresión de los miRNAs específicos de placenta puede estar relacionado con las funciones celulares del trofoblasto de la placenta , lo que afecta el desarrollo de la placenta y el crecimiento fetal. (15)

En un estudio previo con el mismo grupo de pacientes realizado por Dr. Robles y col, en el Instituto Nacional de perinatología 2013 se observo la elevación de miRNA específicos en pacientes con preeclampsia.(17) Beth L, y Col 2007 identificaron elevación en la expresión de miR-182, miR-182 *, y miR-210 en pacientes con preeclampsia, la evidencia demostró que debido a la similitud en la patogenia de ambas patologías podría presentarse de manera aislada.

El principal objetivo en este estudio fue determinar en suero de pacientes con desarrollo de preeclampsia que presentaron RCIU la expresión de tres microRNA-141, -183, -210.

MATERIAL Y MÉTODOS

Toma de la muestra

Cinco mililitros de sangre periférica fue obtenida de pacientes 1) sin evidencias clínicas de PE y sin trabajo de parto (STP); n=7); 2) sin evidencias clínicas de PE y con trabajo de parto (CTP; n=8) y 3) con evidencias clínicas de PE (n=20). 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.

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 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 espectofotometria

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-183, -141, y -210 se realizaron a 56, 58 y 60 °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 1µL de iniciadores específicos, 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 µL de buffer 5X para obtener un volumen de 20 µL.⁶

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 microRNA y el microRNA constitutivo mediante PCR. Para la amplificación de dichas secuencias se empleará la siguiente mezcla de reacción: 200 ng de cDNA molde, 2.5µL de de buffer 10X, 2 mM de MgCl₂, 2.5 mM de cada uno de los dNTP, 10pM de cada iniciador del microRNA específico, 2U de Taq polimerasa, ajustando la reacción a

25 µL con agua para PCR. Los amplificadores 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

Se incluyeron 35 pacientes que para fines del estudio se dividieron en dos grupos: el grupo control que incluyó pacientes sanas con trabajo de parto (n= 8) y sanas sin trabajo de parto (n=7) y el grupo de estudio que incluyó mujeres con preeclampsia (n= 20). En la tabla 1 se describen las características de la población total. En la tabla 1. se describen las comorbilidades de la población.

A su vez, del grupo de las pacientes con preeclampsia se analizaron dos grupos; uno con recién nacidos con peso adecuado para edad gestacional (n= 9) y otro con recién nacidos con restricción del crecimiento (n=11), definidos por peso estimado menor a la percentila 3 de acuerdo a género fetal y edad gestacional.

Las características de la población se analizaron por estadística descriptiva y las diferencias entre los grupos con la prueba estadística U de Mann Whitney para muestras independientes con el software estadístico SPSS v. 22.

RESULTADOS

En la tabla 2 se muestran las características descriptivas de la población con preeclampsia, mientras que en la tabla 3 se muestran las características de la población con preeclampsia y RCIU.

En el grupo de pacientes sanas se compararon aquéllas con y sin trabajo de parto sin encontrar diferencias entre la edad materna, las semanas de ingreso hospitalario, el peso materno, la talla materna y el peso y talla del recién nacido.

En el grupo de preeclampsia se compararon los recién nacidos con peso adecuado contra los de RCIU; no se encontraron diferencias entre la edad materna ($p = 0.15$), las semanas al ingreso al INPer ($p=0.55$), el peso materno ($p=0.37$) o la talla materna ($p= 0.88$), sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre el peso del recién nacido ($p=0.001$) y la talla ($p=0.012$). Estas diferencias se ilustran en la figura 1 y 2. Finalmente, se compararon las pacientes sanas ($n=15$) contra las pacientes con preeclampsia ($n=20$); se obtuvieron diferencias significativas en el índice de masa corporal al ingreso de la paciente ($p=0.03$), el peso ($p=0.0001$) y talla ($p=0.0001$) del recién nacido, las semanas a la resolución del embarazo ($p=0.0001$). En el resto de las variables no hubo diferencia significativa. En las figuras 3, 4 y 5 se ilustran las diferencias entre el IMC y el peso y la talla del recién nacido.

Expresión de los tres microRNAs en pacientes con y sin evidencias clínicas de restricción del crecimiento intrauterino

Para demostrar nuestra hipótesis la cual indica que la restricción del crecimiento

regula de manera diferencial la expresión de los microRNAs a continuación se presentan los resultados obtenidos mediante la retro-transcripción (RT)-PCR en sangre materna.

Expresión del microRNA-141

La figura 6 muestra el perfil de expresión del microRNA-141 obtenido del plasma materno de pacientes sanas y de pacientes con evidencias clínicas de restricción del crecimiento intrauterino (fig. 6A).

El microRNA-141, aumento significativo de 3.6-veces en los casos de RCIU con respecto a las pacientes sin evidencias clínicas de restricción del crecimiento intrauterino ($p = 0.034$; fig. 6B). Al comparar la expresión de microRNA-141 en los casos de RCIU con respecto al grupo control encontramos un aumento significativo de 1.5 y 5.6-veces con respecto al grupo con y sin trabajo de parto ($p = \leq 0.001$) respectivamente (fig. 6B).

Expresión del microRNA-183

La figura 7 muestra el perfil de expresión del microRNA-183 obtenido del plasma materno de pacientes sanas y de pacientes con evidencias clínicas de restricción del crecimiento intrauterino (fig. 7A).

El microRNA-183, aumento significativo de 1.1-veces en los casos con evidencias clínicas de RCIU con respecto a las pacientes sin evidencias clínicas de restricción del crecimiento intrauterino; sin embargo no fue estadísticamente significativa (p

=0.68; fig. 7B).

Al comparar la expresión de microRNA-183 en los casos de RCIU con respecto al grupo control sin trabajo de parto encontramos un aumento significativo de 1.2-veces; sin embargo, no fue estadísticamente significativamente ($p = 0.97$; fig. 7B).

Al comparar los niveles de expresión del microRNA-183 entre el grupo con evidencias de RCIU y el grupo de pacientes sanas con trabajo de parto encontramos una disminución significativa de 2.2-veces ($p = 0.001$).

Expresión del microRNA-210

La figura 8 muestra el perfil de expresión del microRNA-210 en pacientes sanas y de pacientes con evidencias clínicas de restricción del crecimiento intrauterino (fig. 8A).

El microRNA-210, aumento significativo de 1.2-veces en los casos de RCIU con respecto a las pacientes sin evidencias clínicas de restricción del crecimiento intrauterino ($p = 0.073$; fig. 8B). Al comparar la expresión del microRNA-210 en los casos de RCIU con respecto a las pacientes sanas sin trabajo de parto activo aumento 1.9-veces con respecto a las pacientes sin trabajo de parto ($p = 0.001$).

DISCUSION

Los principales hallazgos en este estudio fueron: 1) el microRNA 141 y -210 aumentaron en las pacientes con restricción del crecimiento intrauterino; 2) el perfil de expresión del microRNA-183 no varía en los casos con y sin evidencias de crecimiento intrauterino; 3) la expresión del microRNA-183 aumenta significativamente en los casos de preeclampsia con y sin restricción del crecimiento intrauterino con respecto al grupo de pacientes con trabajo de parto.

Se ha demostrado que los microRNAs son de importancia clínica ya que su perfil de expresión varía en diferentes tejidos patologías (10). Recientemente Tang y colaboradores (18) demostraron un incremento en el nivel de expresión del miR-141 en las placentas de pacientes con evidencias de restricción del crecimiento intrauterino con respecto a los embarazos normales. Gunel y colaboradores demostraron que los microRNAs son detectados en el suero de pacientes con desarrollo de preeclampsia (19).

Nuestros resultados demuestran que en el suero materno un aumento significativo de 3.6 del microRNA-141 con respecto a los embarazos normales. Se ha demostrado que el aumento en la expresión del microRNA-141 reduce significativamente a la proteína pleiomorfica del adenoma (*plag1*) involucrada con la activación del factor de crecimiento epidermal (IGF-2) y del factor de crecimiento endotelial (VEGF) los cuales participan activamente durante el desarrollo gestacional. El aumento del microRNA-141 inhibe la producción del factor de transcripcional *PLAG1* lo que modularía la formación del VEGF (18).

En nuestros resultados demostramos que el microRNA-210 en los casos de

preeclampsia con y sin restricción del crecimiento intrauterino se reduce 1.9-veces su expresión con respecto a embarazo normal. Este resultado contrasta con lo previamente reportado por Muralimanoharan donde ellos demostraron un aumento en la expresión de este microRNA en las placentas de los casos con desarrollo de preeclampsia; sin embargo, en ese estudio no se evaluó su expresión en los casos con RCIU. El papel fisiológico del microRNA-210, está involucrado con la actividad mitocondrial aumentando las especies reactivas de oxígeno y el índice de hipoxia (18). Nuestros resultados sugieren, que la baja expresión en los casos de preeclampsia estaría modificando la capacidad mitocondrial a nivel de la placenta. Finalmente, el microRNA-183 aumenta de manera importante en los casos de preeclampsia como ya ha sido reportado previamente en nuestro grupo de investigación (17). Sin embargo, en este microRNA no diferencia entre los pacientes con desarrollo de restricción intrauterino.

CONCLUSION

La expresión diferencial de los microRNA-141 y 210 aumentaron significativamente en los pacientes con evidencias clínicas de restricción intrauterino con respecto a las pacientes sanas. El microRNA-183 no diferencia en los casos de preeclampsia entre el desarrollo sin y con retraso en el crecimiento intrauterino; sin embargo, este microRNA si es específico para determinar casos de preeclampsia. Es posible que estos marcadores moleculares puedan servir como biomarcadores de fase temprana de preeclampsia.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se desarrollo con fondos federales al Instituto Nacional de Perinatología INPer mediante el proyecto con número de registro 212250-3210091 (otorgado a HFH).

BIBLIOGRAFIA:

1. Magee LA, Pels A, Helewa M, Rey E, von Dadelszen P, Hypertension Guideline Committee, et al. Diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy: executive summary. *J Obstet Gynaecol Can.* 2014 May;36(5):416–38.
2. Mexico. Secretaria de Salud. Direccion General de Salud Reproductiva. Prevencion, Diagnostico y Manejo de la Preeclampsia/Eclampsia. Lineamiento Tecnico. D.F: Secretaria de Salud; 2002.
3. Departamento estadistica Instituto Nacional de Perinatologia Isidro Espinoza De los Reyes.
4. Lo JO, Mission JF, Caughey AB. Hypertensive disease of pregnancy and maternal mortality: Current Opinion in Obstetrics and Gynecology. 2013 Apr;25(2):124–32.
5. Ayoubi. Pre-eclampsia: pathophysiology, diagnosis, and management. *Vasc Health Risk Manag.* 2011 Jul;467.

6. Bernstein IM, Horbar JD, Badger GJ, Ohlsson A, Golan A. Morbidity and mortality among very-low-birth-weight neonates with intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*. 2000 Jan;182(1):198–206.
7. Figueras F, Gratacós E. Update on the Diagnosis and Classification of Fetal Growth Restriction and Proposal of a Stage-Based Management Protocol. *Fetal Diagnosis and Therapy* [Internet]. 2014 [cited 2014 Jul 15]; Available from: <http://www.karger.com?doi=10.1159/000357592>
8. Turan S, Miller J, Baschat AA. Integrated Testing and Management in Fetal Growth Restriction. *Semin Perinatol*. 2008 Jun;32(3):194–200.
9. Kotlabova K, Doucha J, Hromadnikova I. Placental-specific microRNA in maternal circulation – identification of appropriate pregnancy-associated microRNAs with diagnostic potential. *J Reprod Immunol*. 2011 May;89(2):185–91.
10. Morales Prieto DM, Markert UR. MicroRNAs in pregnancy. *Journal of Reproductive Immunology*. 2011 Mar;88(2):106–11.
11. Muralimanoharan S, Maloyan A, Mele J, Guo C, Myatt LG, Myatt L. MIR-210 modulates mitochondrial respiration in placenta with preeclampsia. *Placenta*. 2012 Oct;33(10):816–23.
12. Wiesen JL, Tomasi TB. Dicer is regulated by cellular stresses and interferons. *Mol Immunol*. 2009 Mar;46(6):1222–8.

13. Liu J, Valencia-Sanchez MA, Hannon GJ, Parker R. MicroRNA-dependent localization of targeted mRNAs to mammalian P-bodies. *Nat Cell Biol.* 2005 Jul;7(7):719–23.
14. Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol.* 2009 Jun;33(3):130–7.
15. Miranda Guisado ML, Vallejo-Vaz AJ, García Junco PS, Jiménez Jiménez L, García Morillo S, Muñiz Grijalvo O, et al. Abnormal levels of antioxidant defenses in a large sample of patients with hypertensive disorders of pregnancy. *Hypertens Res.* 2012 Mar;35(3):274–8.
16. Wang D, Na Q, Song W-W, Song G-Y. Altered Expression of miR-518b and miR-519a in the Placenta is Associated with Low Fetal Birth Weight. *Am J Perinatol* [Internet]. 2014 Mar 28 [cited 2014 Jul 14]; Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0033-1361832>
17. Morales Prieto DM, Markert UR. MicroRNAs in pregnancy. *Journal of Reproductive Immunology.* 2011 Mar;88(2):106–11.
18. Pineles BL, Romero R, Montenegro D, Tarca AL, Han YM, Kim YM, et al. Distinct subsets of microRNAs are expressed differentially in the human placentas of patients with preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* 2007 Mar;196(3):261.e1–261.e6.
19. Muralimanoharan S., Maloyan A., Mele J., Guo C., Myatt LG., Myatt L. *Mir-210 modulates mitochondrial respiration in placenta with preeclampsia.* *Placenta* 2011. **33**, p 816.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Características generales de la población estudiada

Estadísticos descriptivos					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. tít.
EDAD	35	16,0	42,0	29,229	7,6122
GESTA	35	1,0	5,0	2,343	1,2821
PESO AL INGRESO	35	46,6	101,7	68,611	13,4141
TALLA	35	1,44	1,65	1,5600	,05000
IMC	35	19,50	42,33	28,1774	5,40796
SDG A LA RESOLUCION	35	26,3	40,6	35,994	3,0131
RN1PESO	35	755,0	4068,0	2466,171	770,0819
TALLA 1	35	35,0	52,0	45,700	4,4029
N válido (según lista)	35				

Tabla 2.**Estadísticos descriptivos**

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
EDAD	20	16,0	42,0	30,850	8,0018
GESTA	20	1,0	5,0	2,150	1,2258
PESO AL INGRESO	20	46,6	101,7	71,640	14,2647
TALLA	20	1,44	1,65	1,5465	,05761
IMC	20	21,81	42,33	29,8745	5,48469
SDG A LA RESOLUCION	20	26,3	39,0	34,305	2,8552
RN1PESO	20	755,0	2855,0	1985,750	591,0742
TALLA 1	20	35,0	49,0	43,425	4,2342
N válido (según lista)	20				

Tabla 3.**Estadísticos descriptivos**

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
EDAD	11	20,0	42,0	33,273	7,2124
GESTA	11	1,0	4,0	2,091	1,0445
PESO AL INGRESO	11	46,6	101,0	69,245	15,3412
TALLA	11	1,44	1,65	1,5482	,05600
IMC	11	21,81	41,00	28,7755	5,81875
SDG A LA RESOLUCION	11	26,3	37,3	33,073	3,0352
RN1PESO	11	755,0	2360,0	1624,545	485,9986
TALLA 1	11	35,0	47,0	41,455	4,6982
N válido (según lista)	11				

Figura 1. Peso del recién nacido en pacientes con preeclampsia, con y sin RCIU

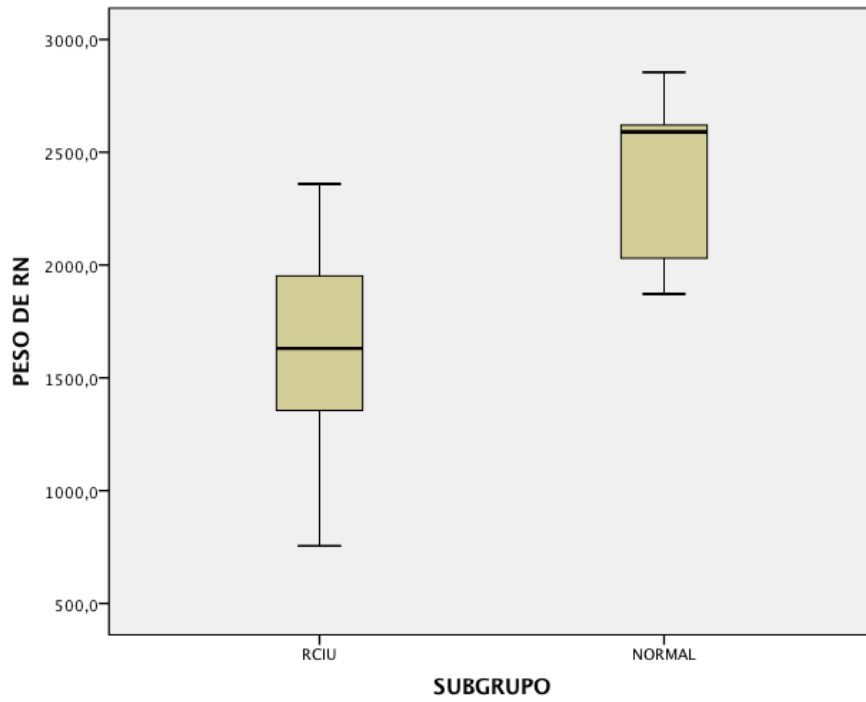


Figura 2. Peso del recién nacido en pacientes con preeclampsia, con y sin RCIU

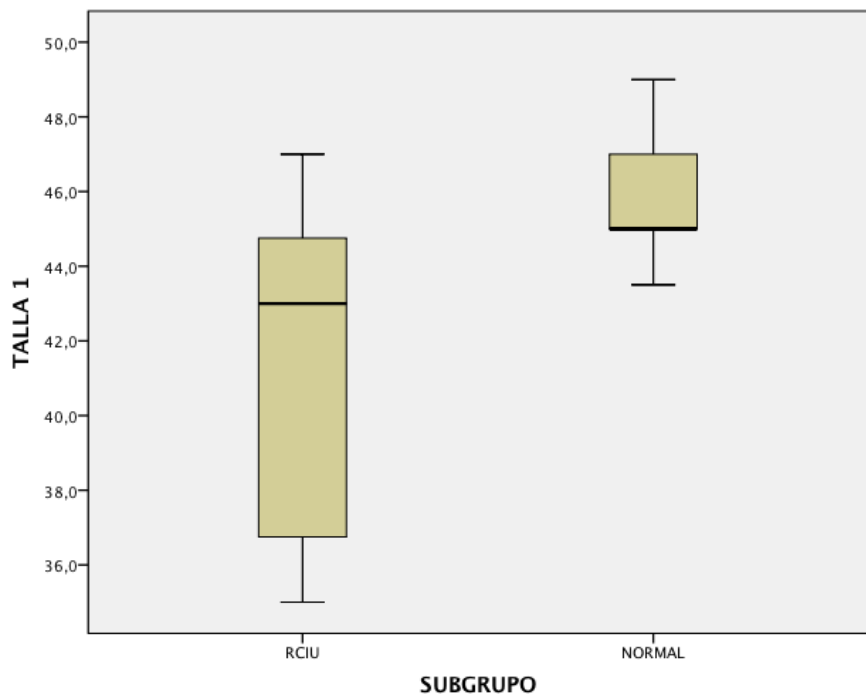


Figura 3.

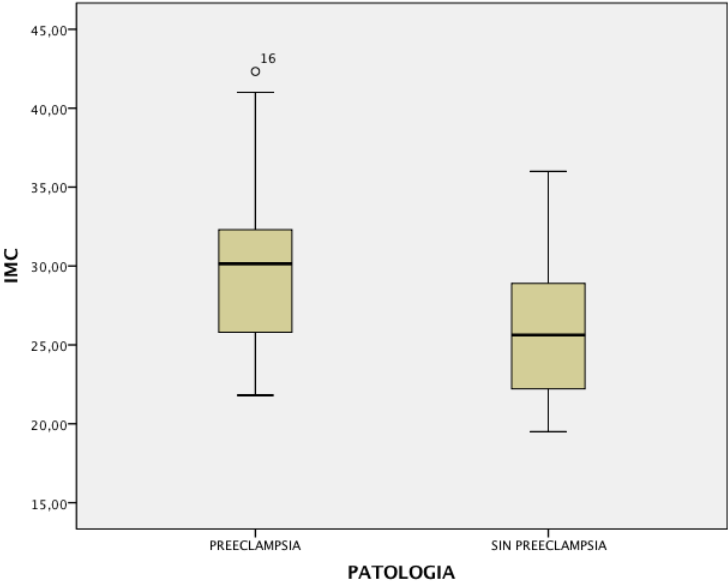


Figura 4.

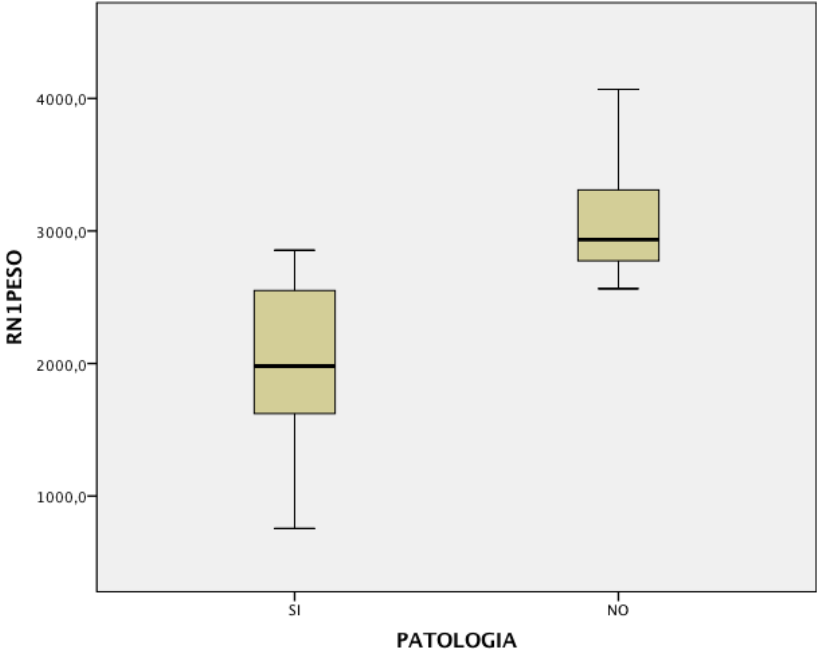


Figura 5

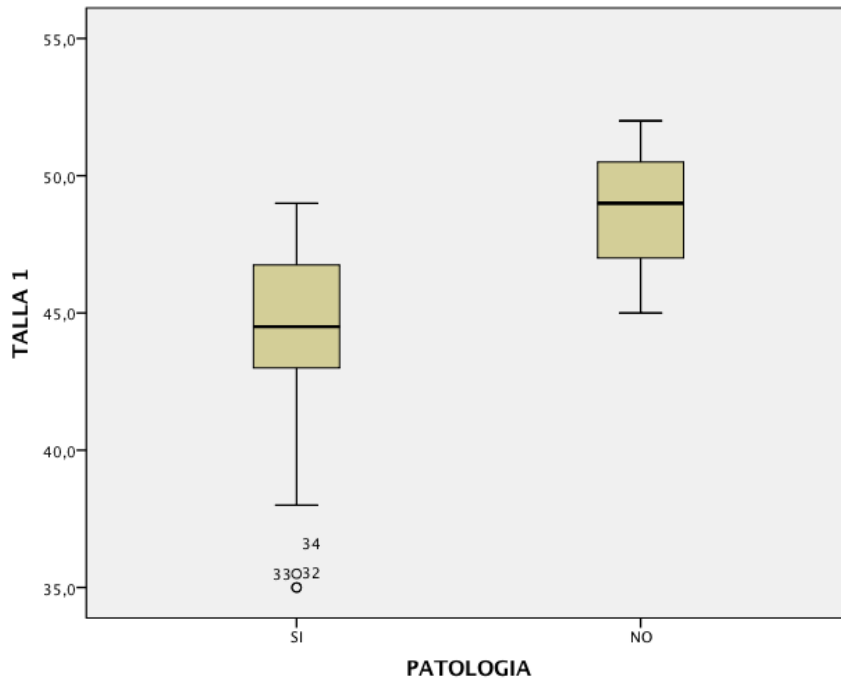


Figura 6.

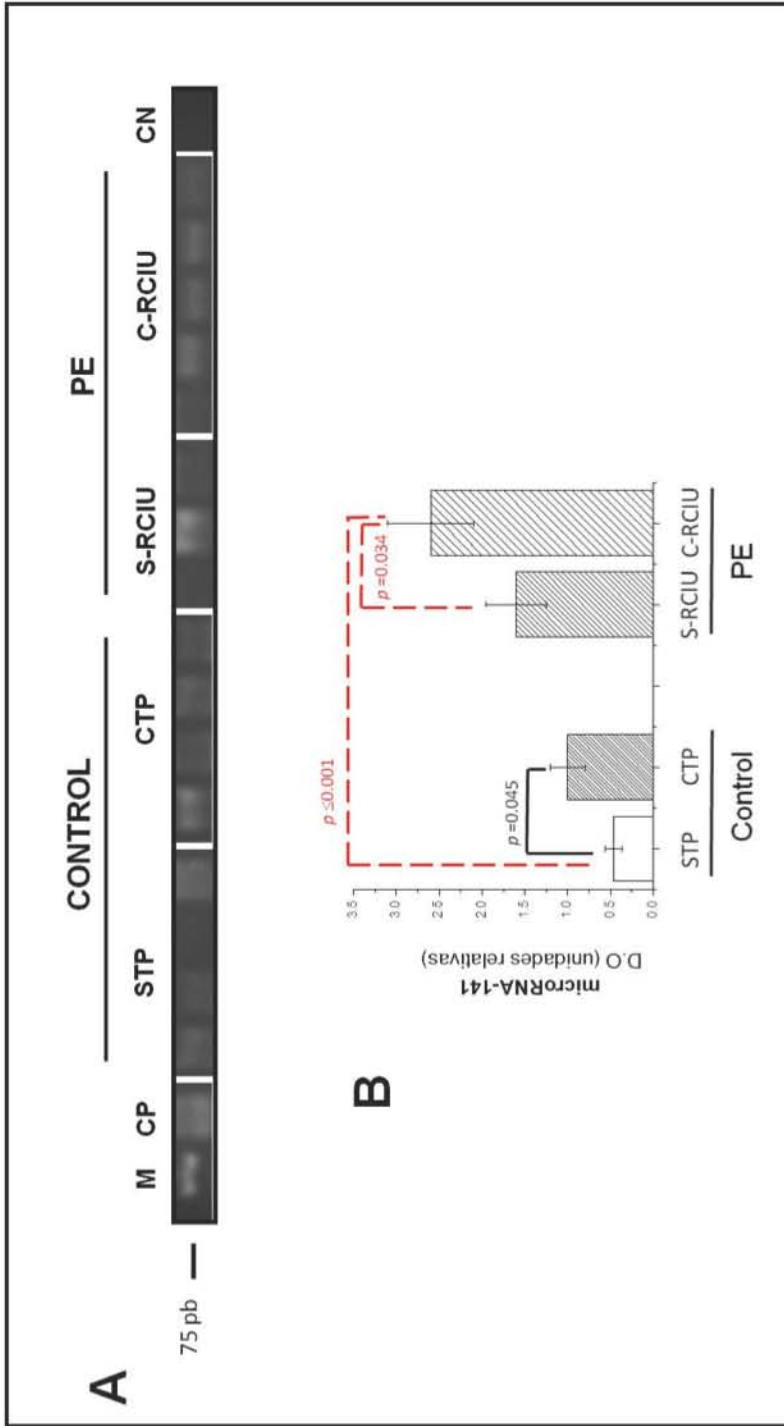


Figura 7.

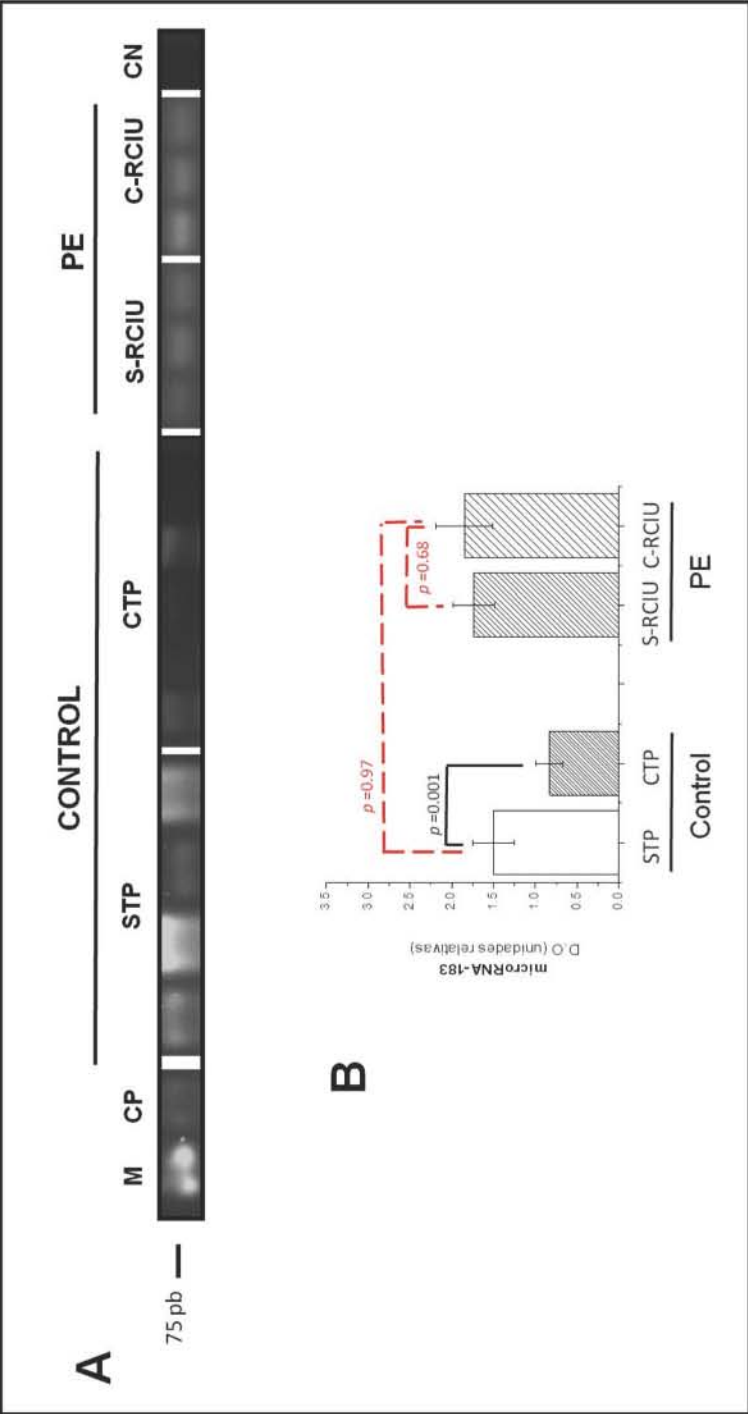
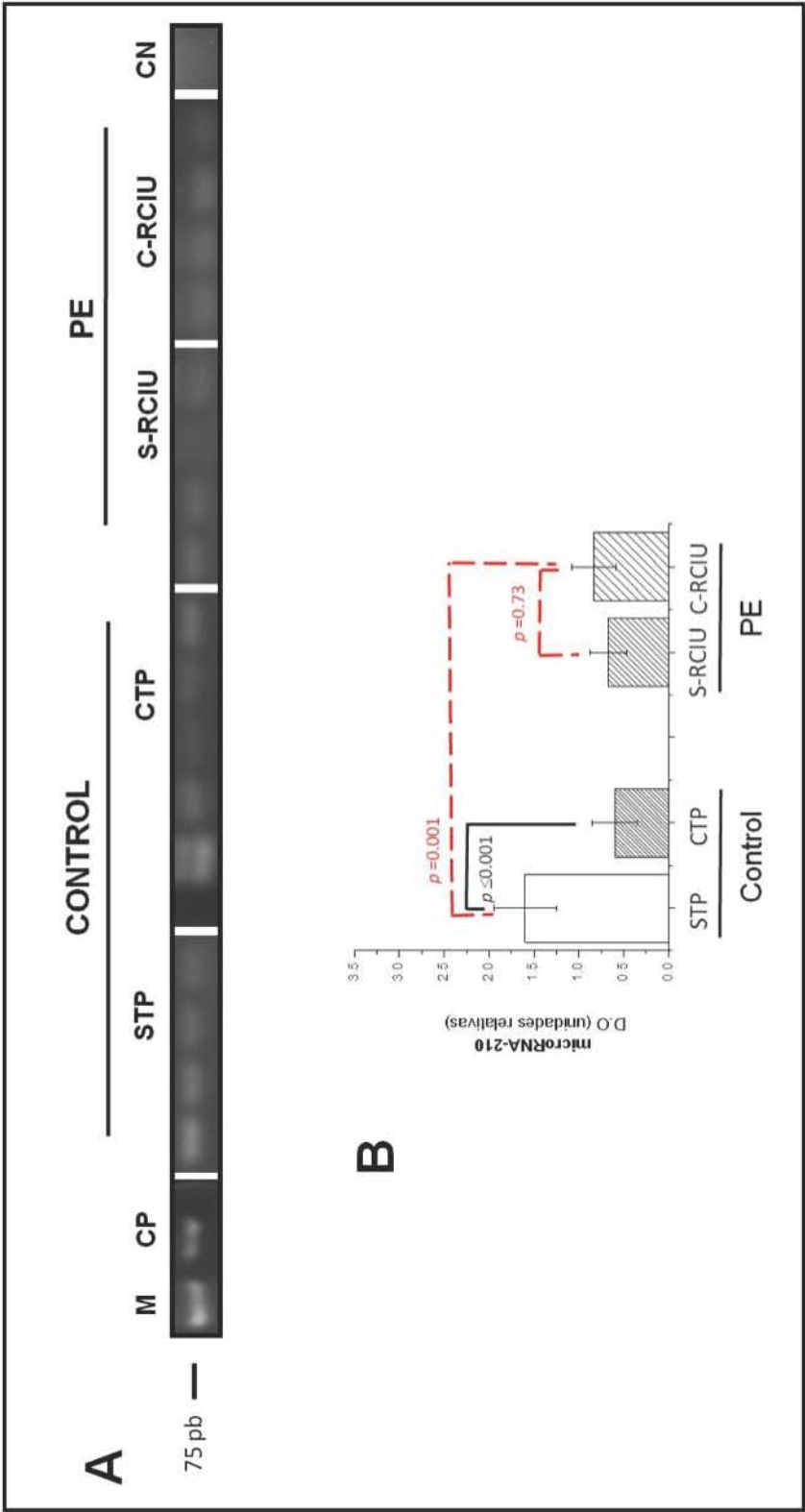


Figura 8.



PIES DE FIGURAS

Figura 1 y 2. Se encontraron diferencias significativas entre el peso del recién nacido ($p=0.001$) y la talla ($p=0.012$).

Figura 3. Diferencia entre IMC en la población con y sin preeclampsia.

Figura 4. Diferencia del peso del RN en la población con y sin preeclampsia.

Figura 5. talla del RN en la población con y sin preeclampsia.

Figura 6. Determinación del microRNA-141 en el plasma de con y sin restricción de crecimiento intrauterino. Expresión diferencial en el grupo control sin trabajo de parto (STP) y con trabajo de parto (CTP) y del grupo con evidencias clínicas de preeclampsia sin restricción de crecimiento intrauterino (S-RCIU) y con restricción de crecimiento intrauterino (S-RCIU). La determinación se realizó mediante el método molecular de RT-PCR (**A**). Los valores fueron cuantificados mediante la densidad óptica de cada banda (**B**). Los datos se muestran como la media \pm error estándar.

Figura 7. Determinación del microRNA-183 en el plasma de con y sin restricción de crecimiento intrauterino. Expresión diferencial en el grupo control sin trabajo de parto (STP) y con trabajo de parto (CTP) y del grupo con evidencias clínicas de preeclampsia sin restricción de crecimiento intrauterino (S-RCIU) y con restricción de crecimiento intrauterino (S-RCIU). La determinación se realizó mediante el método molecular de RT-PCR (**A**). Los valores fueron

cuantificados mediante la densidad óptica de cada banda (**B**). Los datos se muestran como la media \pm error estándar.

Figura 8. Determinación del microRNA-210 en el plasma de con y sin restricción de crecimiento intrauterino. Expresión diferencial en el grupo control sin trabajo de parto (STP) y con trabajo de parto (CTP) y del grupo con evidencias clínicas de preeclampsia sin restricción de crecimiento intrauterino (S-RCIU) y con restricción de crecimiento intrauterino (S-RCIU). La determinación se realizó mediante el método molecular de RT-PCR (**A**). Los valores fueron cuantificados mediante la densidad óptica de cada banda (**B**). Los datos se muestran como la media \pm error estándar.