



GOBIERNO DE LA
CIUDAD DE MÉXICO
CIUDAD INNOVADORA Y DE DERECHOS



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

SECRETARÍA DE SALUD DE LA CIUDAD DE MÉXICO
DIRECCIÓN DE FORMACIÓN, ACTUALIZACIÓN MÉDICA E INVESTIGACIÓN

CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

“IDENTIFICACIÓN DE POTENCIALES BIOMARCADORES GENÉTICOS DE *MTHFR*
PREDICTORES DEL RIESGO DE PREECLAMPSIA”

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN: REVISIÓN SISTEMÁTICA

PRESENTADO POR EUGENIA IRENE MORÁN OROZCO

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

DIRECTOR(ES) DE TESIS
ANDRIC CHRISTOPHER PÉREZ ORTÍZ
JUAN CARLOS DE LA CERDA ÁNGELES



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.



GOBIERNO DE LA
CIUDAD DE MÉXICO
CIUDAD INNOVADORA Y DE DERECHOS



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

SECRETARÍA DE SALUD DE LA CIUDAD DE MÉXICO
DIRECCIÓN DE FORMACIÓN, ACTUALIZACIÓN MÉDICA E INVESTIGACIÓN

CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

“IDENTIFICACIÓN DE POTENCIALES BIOMARCADORES GENÉTICOS DE *MTHFR*
PREDICTORES DEL RIESGO DE PREECLAMPSIA”

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN: REVISIÓN SISTEMÁTICA

PRESENTADO POR EUGENIA IRENE MORÁN OROZCO

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

DIRECTOR(ES) DE TESIS
ANDRIC CHRISTOPHER PÉREZ ORTÍZ
JUAN CARLOS DE LA CERDA ÁNGELES

“IDENTIFICACIÓN DE POTENCIALES BIOMARCADORES GENÉTICOS DE MTHFR
PREDICTORES DEL RIESGO DE PREECLAMPSIA”

AUTOR: EUGENIA IRENE MORÁN OROZCO

VO. BO.

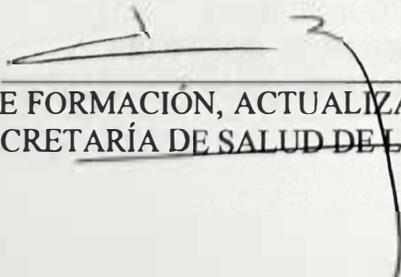
DR. JESÚS RAYMUNDO GONZÁLEZ DELMOTTE.



PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE
ESPECIALIZACIÓN EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA.

VO. BO.

DRA. LILIA ELENA MONROY RAMÍREZ DE ARELLANO.



DIRECTORA DE FORMACIÓN, ACTUALIZACIÓN MÉDICA E INVESTIGACIÓN,
SECRETARÍA DE SALUD DE LA CIUDAD DE MÉXICO



ESTADOS UNIDOS MEXICANOS
SECRETARÍA DE SALUD DE LA
CIUDAD DE MÉXICO
DIRECCIÓN DE FORMACIÓN,
ACTUALIZACIÓN MÉDICA E
INVESTIGACIÓN

VO. BO.

DR. ANDRIC CHRISTOPHER PÉREZ ORTÍZ, M.P.H.



DIRECTOR DE TESIS
RESEARCH FELLOW MASSACHUSETTS GENERAL HOSPITAL Y
UNIVERSIDAD PANAMERICANA

VO. BO.

DR. JUAN CARLOS DE LA CERDA ÁNGELES



DIRECTOR DE TESIS
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE
ESPECIALIZACIÓN EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA.

DEDICATORIAS:

A mis padres, Adriana y Max, gracias por haberme dado una carrera y por creer en mi. Sin ustedes no habría logrado concluir una meta más en mi vida profesional. Siempre me han brindado su cariño y su apoyo de forma incondicional a lo largo, no solo de mi formación académica, sino también de mi vida, por lo cual estaré eternamente agradecida. Han sido mi más grande ejemplo a seguir y siempre me han inspirado a luchar por ser la mejor y cumplir mis metas.

A mis hermanos, Max y Sebastián, por que a pesar de la distancia y nuestras diferentes ocupaciones, los admiro a ambos y yo sé que tengo su apoyo y cariño incondicional siempre.

A Aline, por el apoyo y cariño que siempre me has brindado. Te admiro personal y profesionalmente. Gracias por creer en mi, por inspirarme a ser mejor y a superar mis metas personales. Has sido una de mis más grandes motivaciones y siempre estaré agradecida por tu tiempo, paciencia y por la infinidad de cosas has hecho por mi.

AGRADECIMIENTOS:

A Andric, ya que sin ti éste proyecto no habría sido posible. Eres un ser humano admirable y siempre estaré agradecida por tu apoyo desde aquellos tiempos en la escuela de medicina y ahora que somos profesionistas. Gracias por el tiempo, dedicación y paciencia que nos tuviste a mi y a este proyecto.

Al Dr. Francisco Javier Estrada Mena y a la Universidad Panamericana por el esfuerzo realizado para llevar a cabo esta investigación.

A mis amigos y maestros, aquellos que han aportado a mi formación durante toda mi vida y han sido parte fundamental para haber logrado esta meta.

ÍNDICE

1. Resumen.	9
2. Abstract.	11
3. Marco Teórico.	13
3.1 Definición de preeclampsia	13
3.2 Epidemiología	13
3.3 Fisiopatología de la preeclampsia	14
3.4 Factores de riesgo	14
3.5 Complicaciones	15
3.6 Clasificación	16
3.7 Definiciones	16
3.8 Criterios Diagnósticos	16
3.9 Fisiopatología relacionada con MTHFR	18
4. Planteamiento del problema.	19
5. Justificación.	20
6. Pregunta de Investigación.	21
6.1 General	21
6.1 Particulares	21
7.1 Objetivos.	22
7.2 Objetivo General	22
7.2 Objetivos Específicos	22
8. Hipótesis.	23
8.1 Hipótesis general	23
8.2 Hipótesis por objetivos	23
9. Metodología.	24
9.1 Diseño del estudio.	24
9.2 Protocolo de búsqueda sistemática.	24
9.3 Criterios de inclusión y exclusión.	28
9.4 Tamizaje de la evidencia.	28
9.5 Revisión de la calidad y del riesgo de sesgos de la evidencia	28
9.6 Abstracción de datos	27
9.7 Análisis estadístico	28

Estrategia para la síntesis de datos	28
Análisis de subgrupos o subtipos	28
10. Aspectos Éticos.	29
11. Resultados.	30
11.1 Resultados de la búsqueda.	33
11.2 Características de los estudios incluidos.	31
11.3 Perfil de riesgo de sesgos y calidad de evidencia.	31
Perfil de sesgos	31
Calidad de evidencia	32
11.4 Efecto general del MTHFR sobre preeclampsia.	33
12. Discusión.	39
13. Conclusiones.	40
14. Bibliografía.	41
15. Material Suplementario.	43
15.1 Aprobación de Comité en Investigación y Bioética	43
15.2 Tablas de resultados	44
Tabla 1. Polimorfismos de un solo nucleótido MTHFR investigados para cualquier fenotipo de preeclampsia	44
15.3 Registro del protocolo en PROSPERO	51
15.4 Resúmenes en congresos internacionales	56
15.5 Pósters en congresos internacionales	58
15.6 Protocolos de búsqueda sistemática	59
HuGENet	59
Virtual Health Library	59
ProQuest	59
Ovid/MEDLINE	60

1. Resumen.

Introducción: La preeclampsia es una enfermedad multifactorial compleja con varias características genéticas y ambientales que contribuyen a su desarrollo y severidad. Sin embargo, no hay un factor de riesgo único que proporcione un perfil de riesgo individualizado. El gen de *MTHFR* se encuentra relacionado al desarrollo y pronóstico de esta enfermedad. Dado que la preeclampsia presenta complicaciones potencialmente mortales, se justifica la estratificación del riesgo y/o el tratamiento individualizado basado en marcadores genéticos. Por lo que nuestro objetivo fue probar el efecto de los polimorfismos de nucleótido único (SNP, por sus siglas en inglés) en el gen *MTHFR* (identificado a través de una revisión sistemática) sobre el riesgo de desarrollar preeclampsia (incluido sus subtipos) por medio de un metaanálisis.

Metodología: Realizamos una búsqueda sistemática en las bases de datos Ovid/MEDLINE, ProQuest, HuGENET, y VHL. Se incluyeron estudios observacionales de todos los fenotipos de preeclampsia (con y sin síntomas de severidad) en mujeres de cinco etnias (caucásicas, nativas americanas, afroamericanas, asiáticas, mestizas) después de las 20 semanas de gestación y puerperio y aquellos estudios que determinaron el genotipo basado en instrumentos validados con estricto control de calidad (p. ej., tasa de genotipado $\geq 95\%$, HWE en controles). El resultado primario fue la proporción de todos los fenotipos de preeclampsia según su genotipo, etnia y severidad. Se realizó un metaanálisis de estas medidas utilizando modelos de efectos aleatorios y fijos.

Resultados: Se obtuvieron 318 registros de la búsqueda sistemática y de fuentes adicionales como alertas de citas, minería de referencias, datos no publicados, etc. Se examinaron todos los títulos y resúmenes y se recuperaron 87 registros para análisis cualitativos y cuantitativos. Los SNP investigados más frecuentemente en orden de frecuencia fueron C677T (n=80), A1298C (n=17), A313G (n = 4) y A4070G (n = 2). En algunos, hubo asociaciones nulas del SNP con cualquiera de los fenotipos estratificado por etnia, probablemente por una calidad subóptima de la evidencia (basada en la clasificación STREGA). Nuestros hallazgos del C677T (o rs1801133) lo respaldan, en efectos fijos y aleatorios; los portadores de alelos T-, en comparación con los alelos C-, tienen un 18% a 3% de probabilidades disminuidas de preeclampsia, respectivamente. Sin embargo, con heterogeneidad significativa (I^2 : 92%, $p < 0.001$). Para abordar lo anterior, realizamos análisis de subgrupos, donde los asiáticos tienen la mayor probabilidad de desarrollar preeclampsia, los portadores del alelo T comparado con los portadores del C- tienen probabilidades significativamente mayores (OR 1.35, $p = 0.010$), con moderada heterogeneidad (I^2 : 44%, $p = 0,550$). Para los nativos y afroamericanos, en los

modelos de efectos fijos y aleatorios, existe una tendencia hacia mayores probabilidades de la enfermedad. No obstante, ambos fueron no significativos ($p = 0,74$ y $0,53$, respectivamente) pero homogéneos ($I^2: 0\%$). Esta falta de efecto podría deberse a la baja calidad de la evidencia o al sesgo de selección de alto riesgo, especialmente la falta de equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) en los controles. Finalmente, observamos que este SNP se asocia significativamente con un 50% menos de probabilidades de preeclampsia con síntomas de severidad en nuestros modelos aleatorios.

Conclusiones: Los datos obtenidos indican que *MTHFR* es un gen fundamental para la preeclampsia, especialmente entre los asiáticos y caucásicos. Los portadores de alelos T del rs1801133 tienen probabilidades significativamente más altas de preeclampsia hasta 1.36 veces. Para otras etnias, argumentamos que la calidad actual de la evidencia en este gen podría ser subóptima debido a la falta de consideración del HWE en los controles.

2. Abstract.

Background: Preeclampsia (PE) is a complex multifactorial disease with several known environmental and genetic features contributing to its development and severity. However, no single risk factor provides an individualized risk profile per case basis. *MTHFR* is consistently linked with the development or prognosis of PE. Since PE has life-threatening complications, risk-stratification or individualized treatment based on the genetic markers is warranted. Here, we aimed to test the effect of SNPs in the *MTHFR* gene (identified through a systematic review) on PE and risk and subtypes diagnosis by meta-analysis.

Methods: We conducted a systematic search in MEDLINE, ProQuest, HuGENET, and VHL databases. We included observational studies of all phenotypes of pre-eclampsia (PE, PE with severe symptoms) from women of five ethnicities (Caucasian, Native-, African-American, Asian, Admixed) around 20 gestational weeks and puerperium and those who determined genotype based on validated genotyping instruments and with a stringent quality check (e.g., genotyping call rate $\geq 95\%$, HWE in controls). Our primary outcome was the proportions of all PE phenotypes based on their genotype, ethnicity, and severity. We performed a meta-analysis of these measurements using random and fixed effects models.

Results: There were 318 records from our systematic search and additional sources such as citation alerts, reference mining, unpublished data, etc. We screened all titles and abstracts and retrieved 87 records for qualitative and quantitative analyses. The most prevalent researched SNP in order of frequency were C677T ($n = 80$), A1298C ($n = 17$), A313G ($n = 4$), and A4070G ($n = 2$). In some, there were minimal to null associations from the marker with either phenotype of PE across race/ethnicities, perhaps from a suboptimal quality of evidence (based on STREGA grading). Our findings from the C677T (or rs1801133) support that, in fixed and random effects, T- compared to C- allele carriers have 18% to 3% decreased odds of PE, respectively. However with significant heterogeneity ($I^2: 92\%$, $p < 0.001$). To bolster our approach, we performed subgroup analyses, where Asians have the greatest chance of developing PE, T- compared to a C-carriers have significantly increased odds (OR 1.35, $p = 0.010$), with fair heterogeneity ($I^2: 44\%$, $p = 0.550$). For Native and African Americans, in both fixed and random effect models, there is a trend towards increased odds of PE. However, both were not significant ($p = 0.74$ and 0.53 , respectively) but homogeneous ($I^2: 0\%$). This lack of effect might be due to low quality of evidence or high-risk selection bias, especially the lack of Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) in controls. Finally, we observed that this SNP is significantly associated with 50% lesser odds of PE with severe symptoms in our random models.

Conclusions: Our data indicate that *MTHFR* is a pivotal gene for preeclampsia especially among Asians and Caucasians. T-allele carriers of the rs1801133 have significantly higher odds of PE up to 1.36-fold. For other ethnicities, we argue that the current quality of evidence in this gene might be suboptimal due to a lack of consideration of the HWE in controls.

3. Marco Teórico.

3.1 Definición de preeclampsia

La preeclampsia es un desorden multisistémico progresivo del embarazo en el cual hay aparición de hipertensión posterior a las 20 semanas de gestación y hasta las 12 semanas postparto en una mujer previamente normotensa; comúnmente al final del embarazo. Usualmente se acompaña de proteinuria, sin embargo, también se considera esta enfermedad cuando hay aparición de proteinuria con datos de daño a órgano blanco. El Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología (ACOG, por sus siglas en inglés) es el organismo que más ha publicado y estandarizado los criterios diagnósticos y el manejo terapéutico de la preeclampsia.^{1,2}

3.2 Epidemiología

Se reporta que 830 mujeres mueren diariamente por causas prevenibles en el embarazo o durante el parto y el 90% de éstas ocurren en países en vías de desarrollo.³ La Organización de las Naciones Unidas acordó desde el año 2000 los ocho Objetivos de Desarrollo del Milenio.⁴ En este documento se considera como uno de los objetivos el mejorar la salud materna. México logró reducir la mortalidad materna a más de la mitad entre 1990 y 2013; ya que en el primero la mortalidad era de 887 defunciones por cada 100 mil nacidos vivos y en 2013 se reportaron 382, logrando una disminución del 44%, no obstante, no se logró disminuir el 75% propuesto.³ En 2015 se realizó una nueva cumbre de las Naciones Unidas en donde se establecieron los 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible para la agenda 2030; el objetivo 3 que se refiere a salud y bienestar, considera reducir la tasa mundial de mortalidad materna a menos de 70 por cada 100.000 nacidos vivos.⁴

En el 2014 la Organización Mundial de la Salud realizó una revisión sistemática en donde buscó analizar cuáles fueron las principales causas de muerte materna a nivel mundial. Las primeras cinco causas se atribuyen a las siguientes por orden de frecuencia: hemorragia obstétrica en un 27.1%, los trastornos hipertensivos del embarazo en un 14%, sepsis en un 10.7% y las complicaciones relacionadas al aborto en un 7.9%. Sin embargo, el mismo estudio reporta que en América Latina los trastornos hipertensivos contribuyen a un 22.1% de las muertes ocupando el segundo lugar después de la hemorragia obstétrica con un 23.1%.⁵

La preeclampsia afecta hasta un 10% de los embarazos alrededor del mundo y aumenta la mortalidad 1.7 más a comparación del resto de las mujeres embarazadas. Alrededor de 10 millones de mujeres desarrollan preeclampsia cada año en el mundo y de estas 76,000 mueren cada año por esta o sus complicaciones, mientras que la tasa de mortalidad infantil es de alrededor de 500,000 fetos al año.³ La mayoría de las muertes por preeclampsia y eclampsia

son evitables mediante la provisión de atención oportuna y efectiva a las mujeres que presentan estas complicaciones. Por lo que optimizar la atención médica para prevenir y tratar a las mujeres con trastornos hipertensivos es un paso indispensable.

3.3 Fisiopatología de la preeclampsia

Este trastorno es multifactorial, principalmente causado por una disfunción vascular materna y placentaria (la cual incluye la invasión trofoblástica deficiente del endometrio y miometrio y una remodelación defectuosa de las arterias espirales durante la 18-20 semanas de gestación). En etapas tempranas del embarazo, las arterias espirales deberían transformarse en vasos de gran calibre y baja resistencia, en condiciones anormales, ocurren procesos patológicos como la preeclampsia y la restricción del crecimiento fetal.⁶ Estos defectos causan mala perfusión placentaria y lesión isquémica. Las células endoteliales isquémicas y disfuncionales producen cantidades alteradas de mediadores vasoactivos (que provocan un proceso de vasoconstricción patológica y prolongada) y factores proinflamatorios, que contribuyen a la hipertensión. Sin embargo, la preeclampsia tiene un claro componente genético.

3.4 Factores de riesgo

Las mujeres cuyas madres tuvieron preeclampsia eran más propensas a tener la enfermedad en sus embarazos y los hombres nacidos después de un embarazo complicado por preeclampsia tenían más probabilidades de engendrar un embarazo complicado con preeclampsia. Asimismo, tanto para hombres como para mujeres, tener familiares con antecedente de preeclampsia se asoció a un mayor índice de preeclampsia en fenotipo severo durante el embarazo.⁷ Además del componente genético, la incidencia ha aumentado de manera sincrónica y el aumento en tasas de obesidad, edad materna y comorbilidades médicas de la madre durante la etapa del embarazo.⁸ Dada la evidencia, la preeclampsia es una enfermedad multifactorial compleja que predispone tanto a la madre como al producto, a una serie de riesgos cardiovasculares en el futuro.

El riesgo de una mujer para desarrollar preeclampsia es 7 veces más en países en desarrollo y de estos entre el 10 y 25% resultaron en muerte materna. Los factores que se han asociado con una alta mortalidad por preeclampsia son aquellos que obstaculizan una atención médica de calidad. Como es la pobreza, distancia, menor educación, servicios inadecuados y prácticas culturales.¹

En la actualidad se conocen una variedad de factores de riesgo que están asociados con una probabilidad aumentada de presentar preeclampsia (tabla 1). El riesgo de padecer esta enfermedad aumenta dos a cuatro veces si tiene un familiar de primer grado con antecedente

de haberla presentado y hasta siete veces más de riesgo si lo presentó en un embarazo previo. Sin embargo, la mayoría de los casos de preeclampsia ocurren en mujeres nulíparas sanas sin riesgos evidentes.²

Nuliparidad
Gestación múltiple
Preeclampsia en embarazo previo
Historia familiar de preeclampsia
Hipertensión crónica
Diabetes Pregestacional
Diabetes Gestacional
Trombofilias
Lupus Eritematoso Sistémico
Índice de Masa Corporal > 30 kg/m² previo al embarazo
síndrome antifosfolípidos
Edad materna => 35 años
Enfermedad renal
Embarazo con reproducción asistida

Tabla 1. Factores de Riesgo para Preeclampsia

3.5 Complicaciones

Las complicaciones de la preeclampsia ya son bien conocidas y han sido ampliamente estudiadas, aunque aún quedan muchas dudas que responder sobre ellas. La eclampsia (desarrollo adicional de convulsiones, en ausencia de otros factores de riesgo neurológicos predisponentes) y el síndrome de HELLP (hemólisis, enzimas hepáticas elevadas y bajo recuento de plaquetas) son condiciones potencialmente mortales así como desprendimiento de placenta, parto prematuro y muerte (preeclampsia/eclampsia representan el 10-15% de las muertes maternas directas).⁹ La eclampsia ocurre en 2 a 3 por ciento de las pacientes con manifestaciones severas de preeclampsia.¹⁰ En el caso de las pacientes que desarrollan síndrome de HELLP, un amplio porcentaje 15 a 20% de los pacientes no tienen datos de preeclampsia, aun así, en la gran mayoría de sus pacientes el síndrome de HELLP sigue siendo una complicación de la preeclampsia.

3.6 Clasificación

La primera clasificación de los desórdenes hipertensivos del embarazo se realizó en 1972 por el Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología siendo modificado en 1990 y posteriormente en el año 2000 por el grupo de trabajo del Programa Nacional de Educación sobre la Presión Arterial Alta. Aunque el grupo de trabajo ha modificado algunos de los componentes de la clasificación, continúa con esta clasificación básica, precisa y práctica, que considera la hipertensión durante el embarazo en solo cuatro categorías: 1) preeclampsia-eclampsia, 2) Hipertensión crónica (por cualquier causa), 3) Hipertensión crónica más preeclampsia sobreagregada, e 4) Hipertensión gestacional.¹

3.7 Definiciones

Preeclampsia: Es la nueva aparición de hipertensión y proteinuria o hipertensión y signos multisistémicos que generalmente indican gravedad de la enfermedad.

Hipertensión Crónica: Se define como la hipertensión arterial conocida previa a la gestación o que se detecta antes de las 20 semanas de gestación.

Hipertensión Crónica más preeclampsia sobreagregada: el diagnóstico de ésta incluye siete posibles escenarios en mujeres con hipertensión crónica previa al embarazo que desarrollan proteinuria después de las 20 semanas de gestación o con proteinuria previo a las 20 semanas de gestación que presenten: 1) exacerbación de la hipertensión con necesidad de escalar el tratamiento antihipertensivo, 3) aparición de trombocitopenia, 4) dolor en epigastrio o cefalea, 5) edema pulmonar, 6) desarrollo de insuficiencia renal (creatinina >1.1 mg/dL en mujeres sin enfermedad renal previa) y 7) aumento en la proteinuria de forma súbita y mantenida.

Hipertensión gestacional: Se define como una presión sistólica de 140 mmHg o más o una presión diastólica de 90 mmHg o más, o ambas, en 2 ocasiones separadas por 4 horas, después de las 20 semanas de gestación y previamente normotensa pero sin presentar proteinuria ni datos de daño a órgano blanco.¹

3.8 Criterios Diagnósticos

Los criterios diagnósticos incluyen el desarrollo de hipertensión, definida como un aumento de la presión sistólica ≥ 140 mmHg o presión diastólica ≥ 90 mmHg en dos ocasiones con 4 horas de diferencia, después de las 20 SDG o 12 semanas de puerperio en una mujer previamente normotensa; y la aparición de proteinuria, definida como la excreción de ≥ 300 mg/dl en una recolección de orina de 24 horas ó un índice proteína/creatinina de ≥ 0.3 ó 2+ en una tira reactiva.²

Aunque la hipertensión y la proteinuria se consideran los criterios clásicos, la ausencia de proteinuria no excluye el diagnóstico. Esta enfermedad se puede asociar con otros signos y síntomas, incluyendo las alteraciones visuales, cefalea y epigastralgia; la aparición de trombocitopenia, alteración de la función hepática, insuficiencia renal y edema pulmonar. Una vez que se presenta cualquiera de estas otras alteraciones clasificamos a la preeclampsia con criterios de severidad.²

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE PREECLAMPSIA	
Presión arterial	<ul style="list-style-type: none"> • Presión sistólica ≥ 140 mmHg o presión diastólica ≥ 90 mmHg en dos ocasiones con 4 horas de diferencia, después de las 20 SDG o 12 semanas de puerperio en una mujer previamente normotensa
Proteinuria	<ul style="list-style-type: none"> • ≥ 300 mg/dl en una recolección de orina de 24 horas • Índice proteína/creatinina ≥ 0.3 • Tira reactiva de 2+
CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE PREECLAMPSIA CON CRITERIOS DE SEVERIDAD	
Presión arterial	<ul style="list-style-type: none"> • Presión sistólica ≥ 160 mmHg o presión diastólica ≥ 110 mmHg con diferencia de 4 horas
Trombocitopenia	<ul style="list-style-type: none"> • Plaquetas $< 100,000$/microlitro
Insuficiencia renal	<ul style="list-style-type: none"> • Creatinina sérica ≥ 1.1 o dos veces la concentración basal en ausencia de otra enfermedad renal
Función hepática alterada	<ul style="list-style-type: none"> • Elevación al doble de las transaminasas • Dolor hipocondrio derecho o epigastrio severo que no responde a tratamiento ni se explica por otra causa
Edema pulmonar	
Alteraciones neurológicas	<ul style="list-style-type: none"> • Cefalea, alteraciones visuales

Tabla 2. Criterios diagnósticos de Preeclampsia y Preeclampsia con criterios de severidad

3.9 Fisiopatología relacionada con MTHFR

El gen *MTHFR* es el encargado de codificar para la creación de una enzima llamada metilentetrahidrofolato reductasa. Esta enzima es clave en la regulación del metabolismo de folatos y homocisteína. Actúa transformando el ácido fólico (vitamina B9) a su forma activa para lograr una remetilación de la homocisteína a metionina. La metionina es un aminoácido esencial necesario para la regulación de procesos inmunológicos, digestivos y metabólicos.

Se ha visto que la homocisteína lleva a un estado de hipercoagulabilidad e inflamación y está aumentada en múltiples patologías vasculares, como los infartos cardíacos, la hipertensión, derrames cerebrales y la preeclampsia. Variantes en el gen *MTHFR* son comunes y causan la creación de una enzima con funcionamiento deficiente. Se cree que esta enzima disfuncional lleva a una acumulación excesiva de homocisteína, lo cual explica porque las variantes en este gen están asociadas con enfermedad cardiovascular y preeclampsia.^{9,10}

Con anterioridad, varios estudios han mostrado que variaciones en el gen *MTHFR* están asociadas con un riesgo incrementado de preeclampsia. Sin embargo, las revisiones sistemáticas se limitan a predicciones con SNPs, a pesar de haber otros biomarcadores genéticos importantes como inserciones, deleciones, variaciones en el número de copias o microRNAs. Por lo anterior, hasta la fecha los intentos de crear una firma genética han sido incompletos.^{11,12}

El gen *MTHFR* codifica para la enzima metilentetrahidrofolato reductasa. Esta enzima juega un papel en el procesamiento de aminoácidos. Muchos de los polimorfismos del gen *MTHFR* alteran o disminuyen la actividad de la metilentetrahidrofolato reductasa, lo que conduce a un aumento de la homocisteína en la sangre. Este aumento en los niveles de homocisteína puede contribuir al desarrollo de hipertensión durante el embarazo, por tanto es el gen mayormente estudiado en preeclampsia.¹³

4. Planteamiento del problema.

De acuerdo a datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) 830 mujeres mueren diariamente por causas prevenibles en el embarazo o durante el trabajo de parto. Sólo en el año 2015, 303,000 mujeres murieron por estas causas y se estima que el 90% de las muertes ocurren en países en vía de desarrollo.⁵

La preeclampsia es una de las primeras cinco causas de mortalidad materna en el mundo, mientras que en América Latina representa la segunda causa junto con sus complicaciones (Eclampsia y el síndrome de HELLP).^{3,5} Inclusive, la mortalidad materna es más alta para las adolescentes menores de 15 años, especialmente de los países en desarrollo.¹ Este padecimiento tiene un claro componente genético, y que podría jugar un papel fundamental como modelo predictivo comparado con los factores de riesgo clínicos tradicionales. La investigación a profundidad del rol de marcadores genéticos en preeclampsia puede generar información útil al clínico para poder dar un mejor manejo prenatal personalizado y poder estratificar el riesgo del embarazo *a priori*.

Planteamos que en mujeres embarazadas o en el puerperio, diagnosticadas con cualquier fenotipo de PE, algún marcador genético de *MTHFR* (especialmente los SNPs) influye significativamente la probabilidad de ser diagnosticada y en la severidad de la PE. Además, alguno de estos marcadores de *MTHFR* puede estar asociado con algún fenotipo. El uso de marcadores genéticos pueden ser útil en la estratificación del riesgo perinatal con el fin de lograr un diagnóstico oportuno y un tratamiento personalizado, así como clasificar mejor a las pacientes con respecto a los factores de riesgo tradicionales.

5. Justificación.

La reducción de la tasa de mortalidad materna es uno de las principales objetivos que los organismos mundiales han propuesto como metas a la comunidad médica y científica. Mundialmente la preeclampsia es una de los primeras cinco causas que en conjunto toman el 75% de la tasa de mortalidad materna mundial y que en América Latina representa la segunda causa de mortalidad materna.^{3,5} La preeclampsia por sí sola aumenta 1.7 veces más el riesgo de muerte. Actualmente los múltiples factores de riesgo de los estudios de cohorte clínicos no son suficientemente predictivos para identificar por sí mismos *a priori* a las mujeres en peligro.

La preeclampsia tiene un claro componente genético, el gen *MTHFR* ha mostrado una clara asociación de riesgo con su desarrollo.¹¹ Actualmente, la firma genética que se tiene para este gen es incompleta dado que se basa en pocos SNPs. Tener una firma genética completa junto con los factores clínicos tradicionales ayudarían a predecir la enfermedad y poder empezar un tratamiento personalizado profiláctico.

Con base a lo anterior, realizaremos una revisión sistemática y meta-análisis dado que este tipo de estudios constituyen una herramienta esencial para sintetizar la información científica disponible, incrementar la validez de las conclusiones de estudios individuales, e identificar áreas en donde sea necesario realizar investigación. Además, son imprescindibles para la práctica de una medicina basada en la evidencia individualizada y una herramienta fundamental en la toma de decisiones médicas.¹⁴

6. Pregunta de Investigación.

6.1 General

En mujeres embarazadas (≥ 20 semanas de gestación) y puerperales, ¿algún polimorfismo de nucleótido único en *MTHFR* influye significativamente en la probabilidad de ser diagnosticada con preeclampsia? Además, ¿alguno de éstos marcadores genético está asociado con el fenotipo severo?

Desglose de la pregunta de investigación siguiendo la recomendaciones de Cochrane.¹⁵

- Población: Mujeres embarazadas más allá de las 20 semanas de gestación y puérperas.
- Exposición: Alelo menor o polimorfismo del gen *MTHFR* (Methylenetetrahydrofolate reductase).
- Comparación: Alelo mayor (Wild type o ancestral) del marcador genético para el gen *MTHFR*.
- Desenlace: Proporción de cualquier tipo de preeclampsia (leve o severo, sin o con síntomas de severidad) de acuerdo a los criterios del *American College of Obstetrics & Gynecologists*.¹

6.1 Particulares

En esta población:

1. ¿Algún polimorfismo de nucleótido único en *MTHFR* influye significativamente en la probabilidad de ser diagnosticada con preeclampsia?
2. ¿Algún polimorfismo de nucleótido único en *MTHFR* influye significativamente en la probabilidad de ser diagnosticada con preeclampsia severa?
3. ¿Algún polimorfismo de nucleótido único en *MTHFR* influye significativamente en la probabilidad de ser diagnosticada con preeclampsia de acuerdo con su etnia?

7.1 Objetivos.

7.2 Objetivo General

- Realizar una revisión sistemática de todos los polimorfismos de un sólo nucleótido (SNP) en *MTHFR* asociados a preeclampsia y sus subtipos (fenotipos con o sin síntomas de severidad).
- Evaluar el efecto del alelo menor de algún marcador genético del gen *MTHFR* en la prevalencia de preeclampsia en mujeres embarazadas de ≥ 20 SDG a 40 postparto por meta-análisis.

7.2 Objetivos Específicos

4. Evaluar el efecto individual de cada marcador SNP de *MTHFR* con la posibilidad de ser diagnosticada con preeclampsia.
5. Evaluar el efecto individual de cada SNP de *MTHFR* con la posibilidad de ser diagnosticada con preeclampsia severa.
6. Evaluar el efecto individual de cada SNP de *MTHFR* con la posibilidad de ser diagnosticada con preeclampsia estratificado por etnia.
7. Evaluar el efecto global de todos los SNP de *MTHFR* con la probabilidad de presentar preeclampsia durante el embarazo.
8. Evaluar el efecto global de todos los SNP de *MTHFR* con la posibilidad de padecer el fenotipo de preeclampsia severa.
9. Evaluar el efecto global de todos los SNP de *MTHFR* con la posibilidad de padecer el fenotipo estratificado por etnia.

8. Hipótesis.

8.1 Hipótesis general

En mujeres embarazadas o en el puerperio, diagnosticadas con cualquier fenotipo de preeclampsia, hay al menos un biomarcador genético de *MTHFR* que influye de manera significativa en la probabilidad de ser diagnosticada. Además, hay al menos biomarcador de *MTHFR* asociado con algún fenotipo de preeclampsia.

8.2 Hipótesis por objetivos

Objetivo Particular #	Hipótesis alternas
1	Existe asociación entre el efecto individual de cada SNP de <i>MTHFR</i> y la posibilidad de ser diagnosticada con preeclampsia.
2	Existe asociación entre el efecto individual de cada SNP de <i>MTHFR</i> y la posibilidad de ser diagnosticada con preeclampsia severa.
3	Existe asociación entre el efecto individual de cada SNP de <i>MTHFR</i> y la posibilidad de ser diagnosticada con preeclampsia entre etnias.
4	Existe asociación entre la evaluación global de todos los SNP de <i>MTHFR</i> y la presencia de preeclampsia.
5	Existe asociación entre la evaluación global de todos los SNP de <i>MTHFR</i> y el fenotipo de preeclampsia severa.
6	Existe asociación entre la evaluación global de todos los SNP de <i>MTHFR</i> y la presencia de preeclampsia estratificado por etnias.

9. Metodología.

9.1 Diseño del estudio.

Llevamos a cabo una revisión sistemática exhaustiva de las bases de datos Ovid/MEDLINE, HuGENet, y VHL y un metanálisis de nuestros hallazgos siguiendo las recomendaciones del STrengthening the REporting of Genetic Association Studies (STREGA por sus siglas en inglés)¹⁶ y las guías del Preferred Reporting Items of Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA por sus siglas en inglés).¹⁷ Nuestro protocolo de revisión sistemática completo está registrado en el PROSPERO Registro Prospectivo Internacional de Revisiones Sistemáticas (PROSPERO: CRD42018090519, <http://www.crd.york.ac.uk/prospero>) y está disponible en http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/display_record.php?ID=CRD42018090519.

9.2 Protocolo de búsqueda sistemática.

Para nuestra búsqueda de literatura, implementamos una matriz integral de búsqueda que incluye vocabulario controlado y operadores lógicos/booleanos de todas las bases de datos electrónicas siguiendo nuestra pregunta de investigación PICO. Una descripción detallada de nuestra estrategia de búsqueda está disponible en el Material Suplementario 15.6. Brevemente, se realizaron búsquedas de todos los estudios observacionales que evaluaron a las mujeres embarazadas después de 20 semanas de gestación hasta el puerperio (Población) cuyo genotipo de *MTHFR* (SNP) se determinó, ya sea alelo menor (Exposición) o alelo mayor portadores (Comparación), y para quienes estaba disponible un diagnóstico clínico de preeclampsia o embarazo normal (Resultado). Todos los autores seleccionaron de forma independiente los títulos y resúmenes para inclusión y exclusión. Se incluyeron estudios observacionales de todos los fenotipos de preeclampsia (sin y con criterios de severidad), aquellos que siguieron los principios de Helsinki, y las pautas de diagnóstico del Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos (ACOG). Además, todos los datos genéticos deben determinarse con instrumentos validados y reflejar un estricto control de calidad (por ejemplo, *genotyping call-rate* $\geq 95\%$, equilibrio de Hardy-Weinberg en los controles, etc.).

9.3 Criterios de inclusión y exclusión.

- | | |
|-----------|--|
| Inclusión | <ul style="list-style-type: none">● Restricción de idioma para inglés, español, francés, y ruso.● Estudios observacionales (casos y controles, cohortes, diseños transversales, diseños anidados).● Disponibilidad de texto completo.● Preeclampsia o fenotipo (sin y con síntomas de severidad o leve vs. severa) según las guías clínicas del Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos (ACOG).● Evaluaciones de variación genética (ya sea polimorfismos de un solo nucleótido, variación del número de copias, repeticiones en tándem cortas / variación de microsatélites, polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción, inserciones / deleciones a pequeña escala).● Prevalencia de alelos menores por fenotipo en forma tabular o redactada. |
| Exclusión | <ul style="list-style-type: none">● Resultados duplicados de fuentes de información (Ovid/MEDLINE, PubMed, y VHL).● Sin disponibilidad de texto completo.● Resúmenes o actas de congresos sin disponibilidad de texto completo.● Texto completo en otros idiomas que no sean del inglés, español, francés y ruso.● Revisiones narrativas o sistemáticas previas sobre el gen.● Informes de casos individuales o familiares.● Investigación clínica en ginecoobstetricia que no sea enfocada en la variación genética, por ejemplo, marcadores séricos o fetales.● Investigación básica en preeclampsia: estudios en animales o cultivos celulares, métodos computacionales.● Otros informes clínicos o básicos en enfermedades sistémicas. |

9.4 Tamizaje de la evidencia.

A priori, establecimos una matriz exhaustiva de búsqueda incluyendo un vocabulario controlado y operadores booleanos / lógicos. Incluimos estudios observacionales de todos los fenotipos de preeclampsia (Preeclampsia, Preeclampsia con criterios de severidad) de mujeres

embarazadas alrededor de las 20 semanas de gestación y las primeras 12 semanas del puerperio. Los estudios incluidos siguen la declaración de Helsinki y las guías de diagnóstico del ACOG. Todos los datos del genotipo se determinaron con instrumentos válidos de genotipado y reflejan un control de calidad estricto (por ejemplo, señal de genotipos//genotype call-rates \geq 95%, equilibrio de Hardy-Weinberg en los controles, etc.). Todos los estudios observacionales y ensayos controlados aleatorizados, si califican, serán considerados para esta revisión. Se examinaron los resúmenes y los reportes completos publicados para crear una lista exhaustiva de todos los marcadores genéticos de *MTHFR* actuales asociados con la preeclampsia.

Para evitar el sesgo de información, se incluyen todos los estudios con una metodología válida de genotipado y resultados en duplicado de técnicos cegados. Para disminuir el riesgo de sesgo de selección en nuestras estimaciones, todos los estudios deben de seguir las guías de diagnóstico de preeclampsia actuales respaldadas por el ACOG y deben de contar con una descripción completa de los casos y controles.

Intervención (es), Exposición (es)

Incluimos estudios observacionales que determinen genotipos basados en instrumentos de genotipado validados y que todos los resultados se corroboran por triplicado por operadores con experiencia cegados. Los fenotipos de preeclampsia deben seguir las directrices de las guías del ACOG.

Comparador (es) / Control (es)

Todos los estudios observacionales que determinan los fenotipos de preeclampsia basados en el genotipo serán considerados para esta revisión. Para determinar los casos incluidos, los estudios deben seguir las pautas de diagnóstico del ACOG.

Resultado (s) Primario (s)

El resultado primario será la proporción de todos los fenotipos de preeclampsia en función a su genotipo. Para evaluar la gravedad, los estudios realizados antes de 2013, los resumimos según la clasificación anterior (Preeclampsia leve o Preeclampsia severa). Los estudios posteriores a 2013 deben seguir la nueva guía de diagnóstico (Preeclampsia con o sin síntomas de severidad) para la consideración de su revisión.

Resultado (s) Secundario (s)

El enlistado de todos los marcadores genéticos de *MTHFR* actualmente investigados (p. ej. SNPs, CNVs, indel, miRNAs, entre otros) será considerado como un resultado secundario de esta revisión sistemática.

9.5 Revisión de la calidad y del riesgo de sesgos de la evidencia

El sesgo se evaluará según los criterios actualizados de los criterios del Cochrane Back Review Group. Como este protocolo se refiere a la epidemiología genética, el sesgo de selección con respecto al fenotipo o a la información del genotipo incluirá si los casos se han diagnosticado de manera correcta, o incluso si se excluyen los casos familiares o sindromáticos. Además, con respecto al sesgo de información, todos los estudios deben comprobar su resultados por duplicado. Se clasificaron los artículos en riesgo de sesgo alto, intermedio o bajo para lograr analizar el riesgo de sesgo total de los artículos seleccionados. El sesgo será evaluado de forma independiente por cinco revisores; en caso de desacuerdo, se consultará a un tercer revisor experto.

9.6 Abstracción de datos

Los datos se recopilaron en base a un formato estandarizado de las recomendaciones STREGA para informar sobre estudios de asociación genética¹⁶ y se publicaron pruebas sobre posibles variables de interés en epidemiología genética.¹⁸ Los datos extraídos incluyeron el diseño del estudio (como GWAS, cohorte, control de casos, corte transversal), declaración sobre si el estudio es el primer informe de una asociación genética, un esfuerzo de replicación, o ambos, definición de casos de preeclampsia, descripción del métodos de laboratorio que incluyen enfoques y plataformas de origen, almacenamiento y genotipado, cálculo del tamaño de la muestra, datos descriptivos esenciales, resultado principal de intereses (genotipos, fenotipos y otras exposiciones) y medidas de asociación (OR, HR, RR con un intervalo de confianza del 95% apropiado). Cada revisor evaluó de forma independiente cada documento para la recopilación y extracción de datos. Del mismo modo, cualquier desacuerdo se consultó con un tercer revisor experto de campo. El sesgo se evaluó según los criterios actualizados del Cochrane Review Group.

Se extrajeron los datos demográficos críticos y el número de casos y controles de preeclampsia con un genotipo dado. Nuestro resultado primario fue la proporción de todos los fenotipos de preeclampsia en función de su genotipo. Se realizó un metaanálisis de estas medidas utilizando modelos de efectos aleatorios y fijos.

9.7 Análisis estadístico

Estrategia para la síntesis de datos

Los resultados relativamente homogéneos (I^2 menos del 75%) se combinaron y analizaron a través del metaanálisis. Los gráficos de forrest plot (o diagrama de bosque) se redactaron para evidenciar el efecto individual de cada biomarcador genético de *MTHFR* en el diagnóstico de preeclampsia. La calidad de cada estudio se evaluará de acuerdo a las guías para el reporte de marcadores genéticos adaptados para este estudio (Altman, McShane, Sauerbrei y Taube, 2012) y las recomendaciones de STREGA¹⁶ y STROBE.¹⁹

Análisis de subgrupos o subtipos

La diversidad clínica se puede encontrar si algunos estudios observacionales difieren en el contexto, los participantes (especialmente diferentes etnias con un patrón genético distinto), o incluso la medida del resultado (determinación del diagnóstico basado en otras recomendaciones diferentes al ACOG). Lo anterior nos lleva a una heterogeneidad estadística incrementada en este tipo de estudios de asociación genética por evidencia conflictiva entre los subtipos de la población. Para evaluar la heterogeneidad se utilizó una prueba de χ^2 al nivel de significancia de 0.05. Los valores de I^2 superiores al 75% se considerarán altamente heterogéneos, entre el 25-75% moderadamente y menos del 25% comparables. Los estudios altamente heterogéneos se analizaron utilizando un modelo de efectos aleatorios, el resto con un modelo de efectos fijos.

10. Aspectos Éticos.

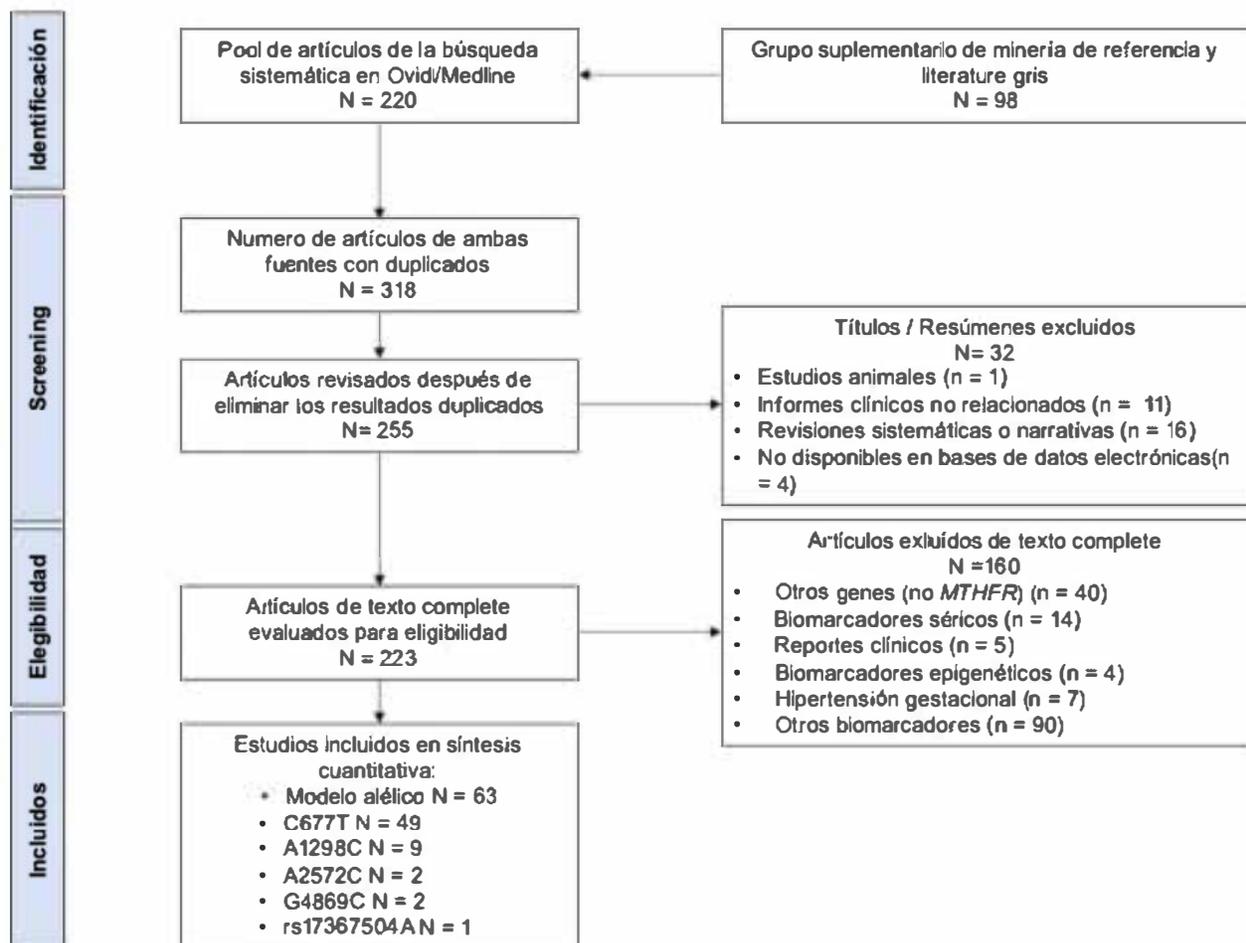
- Clasificación de la Investigación: Investigación sin riesgo.
- Riesgos Previsibles y Probables: Dado que nuestro estudio es una revisión sistemática, no presenta riesgos previsibles ni probables ya que nuestra base de estudio es el análisis de artículos previamente publicados.
- Medidas de Protección Frente al Riesgo Físico y/o Emocional: No Aplica.
- Carta de Consentimiento Informado: No Aplica.
- Archivo Confidencial de la Investigación: Nuestra base de datos será resguardada en una computadora protegida con contraseña. Sólo tendrán acceso a los datos los investigadores del estudio. Dado que los artículos que se están revisando en nuestro protocolo han sido previamente publicados, estos pueden utilizarse sin inconveniente o permisos previos.

11. Resultados.

11.1 Resultados de la búsqueda.

Como se muestra en la Figura 1, obtuvimos nuestra base de datos principalmente de Ovid/Medline (n = 220) y mediante minería de referencia o literatura gris (n = 98). No hubo registros adicionales recuperables por HuGENet o VHL. Después de una evaluación inicial, excluimos 63 resultados duplicados de ambas fuentes (n = 2 OVID, n = 61 minería de referencia). Analizamos completamente 255 títulos y resúmenes restantes y excluimos 168 por no cumplir con nuestros criterios de inclusión. El motivo más frecuente de exclusión fueron los artículos que investigaron genes no relacionados con nuestra pregunta de investigación (~ 23.8% de todos los descartados). Además, en el 8.3% de nuestros casos excluidos, los trabajos se realizaron con marcadores séricos, ya sea maternos o fetales. Finalmente, incluimos para la síntesis cualitativa y cuantitativa 87 de los 255 registros originales (Figura 1). Por lo tanto, nuestras inferencias se realizan utilizando este grupo.

Figura 1. Diagrama de Flujo PRISMA



11.2 Características de los estudios incluidos.

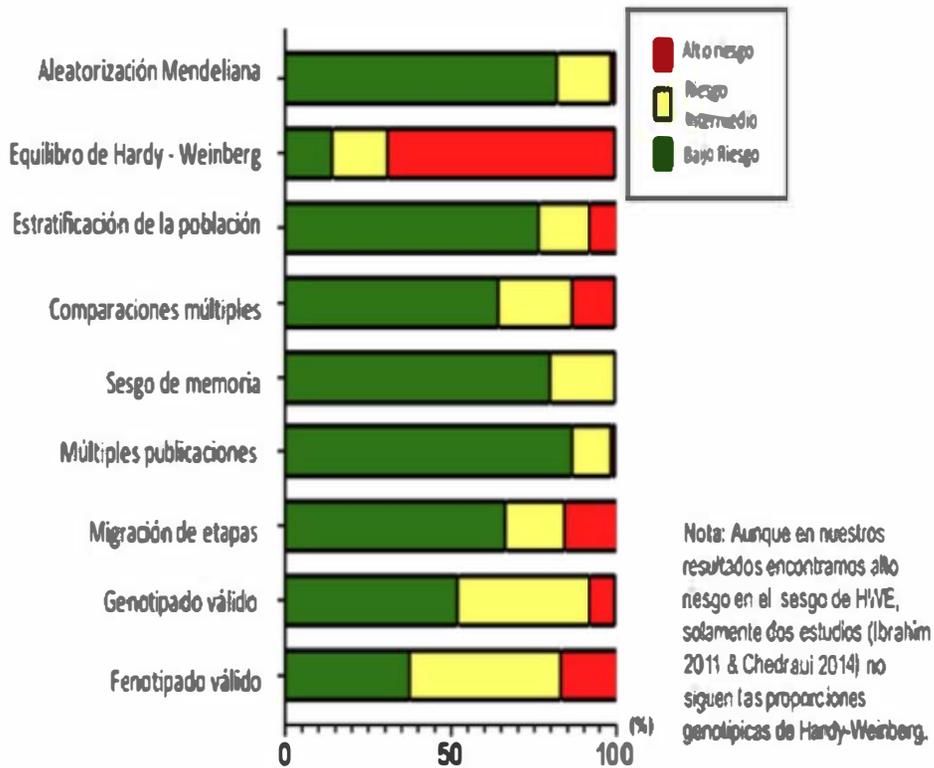
Los estudios incluidos fueron realizados desde 1997 al 2018, de éstos se incluyeron 63. El SNP *MTHFR* investigado con mayor prevalencia fue el C677T (n=49) con un 77.78%, seguido de A1298C (n=9) con un 14.29%, A313G (n=4) y A4070G (n=2), el resto (G1691A, A2582C, C4869G) fueron informes únicos. El tamaño de la muestra total fue de 24,964 participantes, de los cuales el 84.3% (21,040 mujeres) fueron evaluadas para el SNP C677T. El país con mayor investigación en el campo fue Países Bajos (N=6, 9.52%), seguido de Irán (N=5, 7.94%), y en tercer lugar Japón (N=4, 6.35%) y México (N=4, 6.35%). La etnia más prevalente fue la caucásica no hispanica (N=32, 50.79%), seguido de otros (N=15, 23.81%). Hubo igual representación de asiáticos, negros, mestizos, y nativos americanos (N=4, 6.35%). El criterio diagnóstico más ocupado fue del ACOG (N=44, 69.84%). En promedio, los artículos evaluados tenían un diseño de casos y controles 2:1. Casos con una media de 127.96 y de controles 260.38. (Material Suplementario Tablas de Resultados)

11.3 Perfil de riesgo de sesgos y calidad de evidencia.

Perfil de sesgos

En la Figura 2 se observa la distribución de los sesgos encontrados, de éstos, el más prevalente fue la falta de equilibrio en los controles de Hardy-Weinberg (riesgo alto), el cual presenta un impacto en la asociación entre los SNP y la presencia de preeclampsia. El Fenotipo válido ocurrió en un 60% (riesgo intermedio), fue diagnosticado con los criterios de la ACOG, el resto de los estudios no presentaba evidencia y no tenía datos suficientes para valorar si fue válido o no el diagnóstico preeclampsia. El sesgo de Genotipo válido ocurrió en un 50% (riesgo intermedio). En éste los datos del laboratorio no fueron suficientes para determinar si la calidad de genotipación era la óptima. Una genotipación óptima se da por resultados por duplicado o por método, hechos por laboratoristas experimentados y cegados al estatus de caso/control, *genotyping call rate* (porcentaje de resultados de los genotipos) > 95%, equilibrio de Hardy Weinberg en los controles, gender-check (genotipado una sonda del par sexual para corroborar que en base de datos el sexo corresponda).

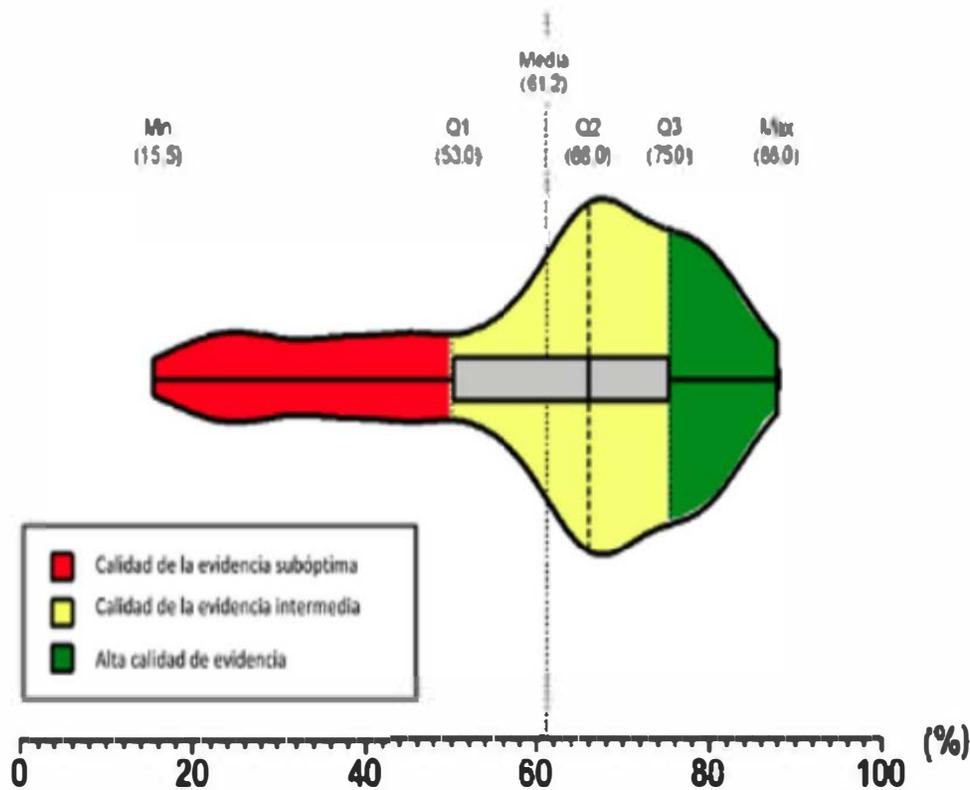
Figura 2. Distribución de sesgos. Proporciones de sesgos en el total de la evidencia. En rojo riesgos altos, amarillo intermedios y verde bajos.



Calidad de evidencia

Calidad de evidencia se midió con la iniciativa STREGA (STrengthening the REporting of Genetic Association Studies) que se basa en la Declaración STROBE (STrengthening the Reporting of OBservational Studies in Epidemiology). Los artículos fueron evaluados: con puntuación de 1 si el ítem de la lista de cotejo estaba presente ó 0 si ausente. Categorizamos con calificación mínima al cuartil (Q1) evidencia subóptima, Q1-Q3 intermedia, y mayor del Q3 alta. la Calificación mínima fue 15.5%, y la máxima de 88%. El promedio fue de 61.2%. Se realizó un Plot violín donde se visualiza que la mayoría de la evidencia tiene calificación igual o superior al cuartil 2 ($\geq 66\%$) y el 75% tiene una calidad de evidencia alta.

Figura 3. Diagrama de caja y bigote para evaluación de la calidad de los artículos incluidos



11.4 Efecto general del MTHFR sobre preeclampsia.

El primer polimorfismo de *MTHFR* incluido fue C667T, el cual encontramos que está presente en muchas partes del mundo pero con mayor frecuencia en las poblaciones de Chile y México. Este polimorfismo tiene una asociación con el riesgo de padecer preeclampsia de OR 0.87 (0.83-0.91) en el modelo de efectos fijos y de OR=0.87 (0.83-0.91) en el modelo de efectos variables. Sin embargo, estos estudios mostraron una alta heterogeneidad (I² 90%), por lo que decidimos resolver este problema analizando los artículos por subgrupos (etnia y fenotipo), encontrando así, que en asiáticos tiene una relación de [OR=1.38 (1.16-1.65)] en el modelo de efectos fijos y de [OR=1.39 (1.09-1.67)] en el modelo de efectos variables; y en caucásicos de [OR=0.79 (0.75-0.84)] en el modelo de efectos fijos y de [OR=1.01 (0.81-1.27)] en el modelo de efectos variables. El otro polimorfismo analizado fue A1298C, el cual no mostró ningún resultado con significancia estadística.

Figura 4. Mapa de distribución mundial del SNP C677T

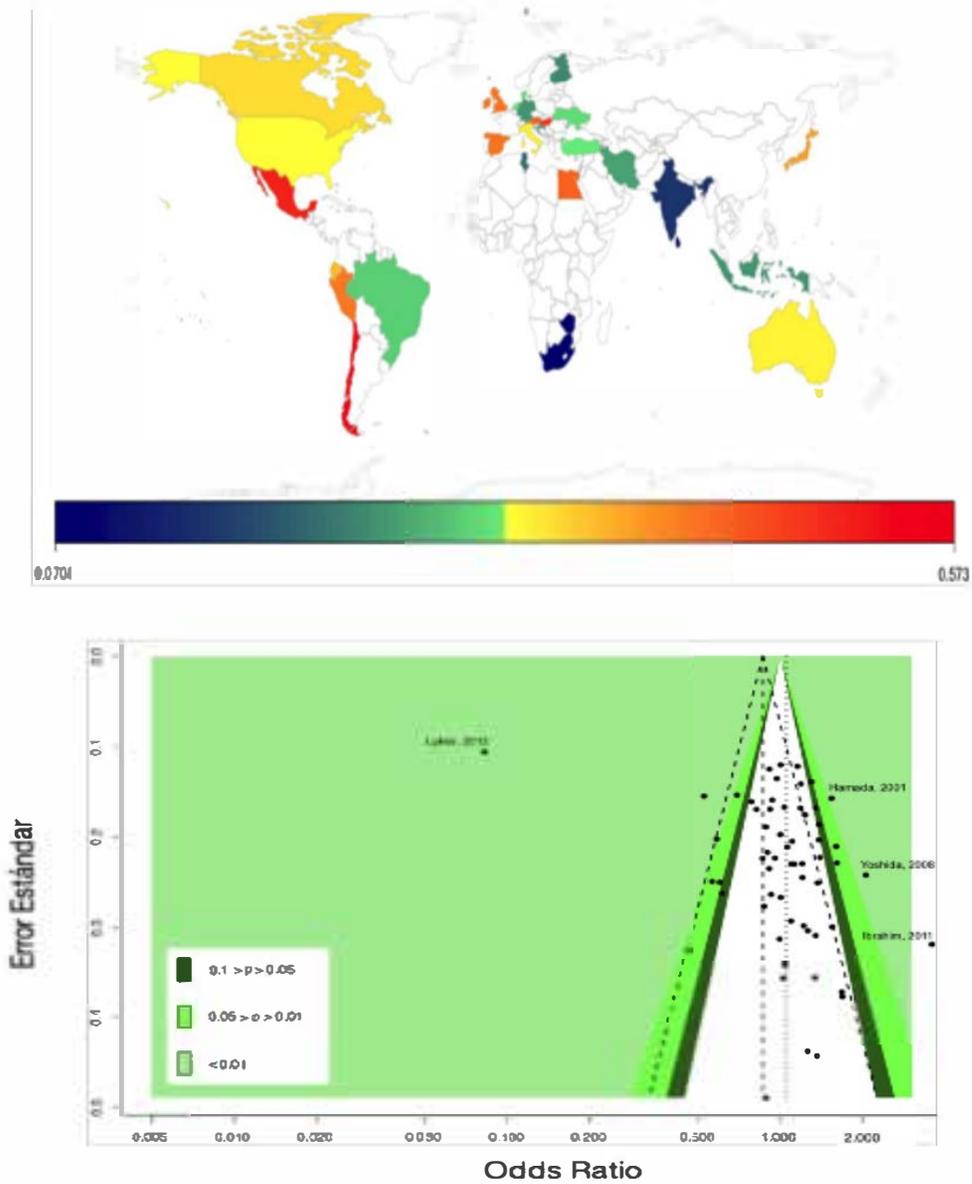


Figura 5. Mapa de distribución mundial del SNP A1298C

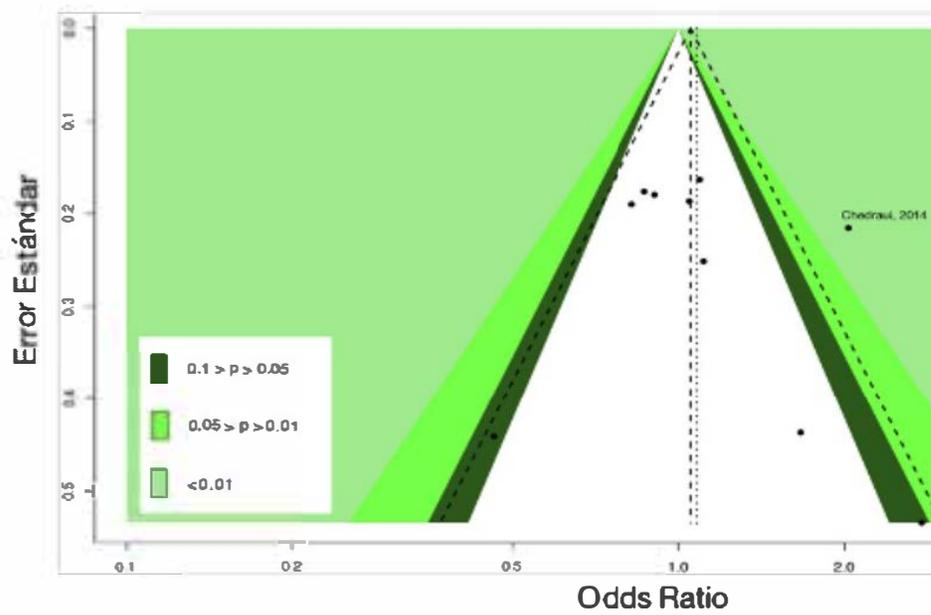
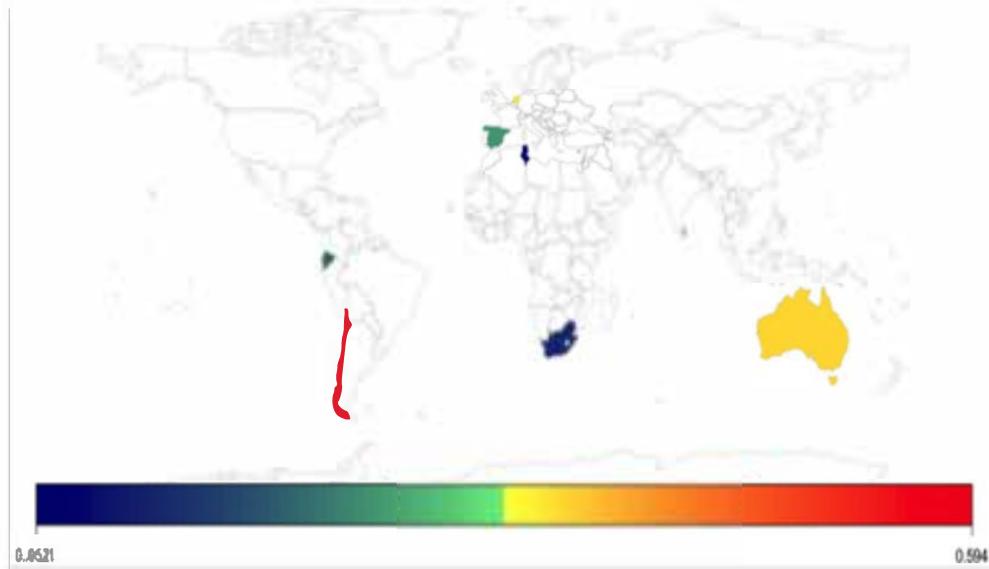


Figura 6. Meta-análisis general y estratificado del efecto de C677T sobre preeclampsia

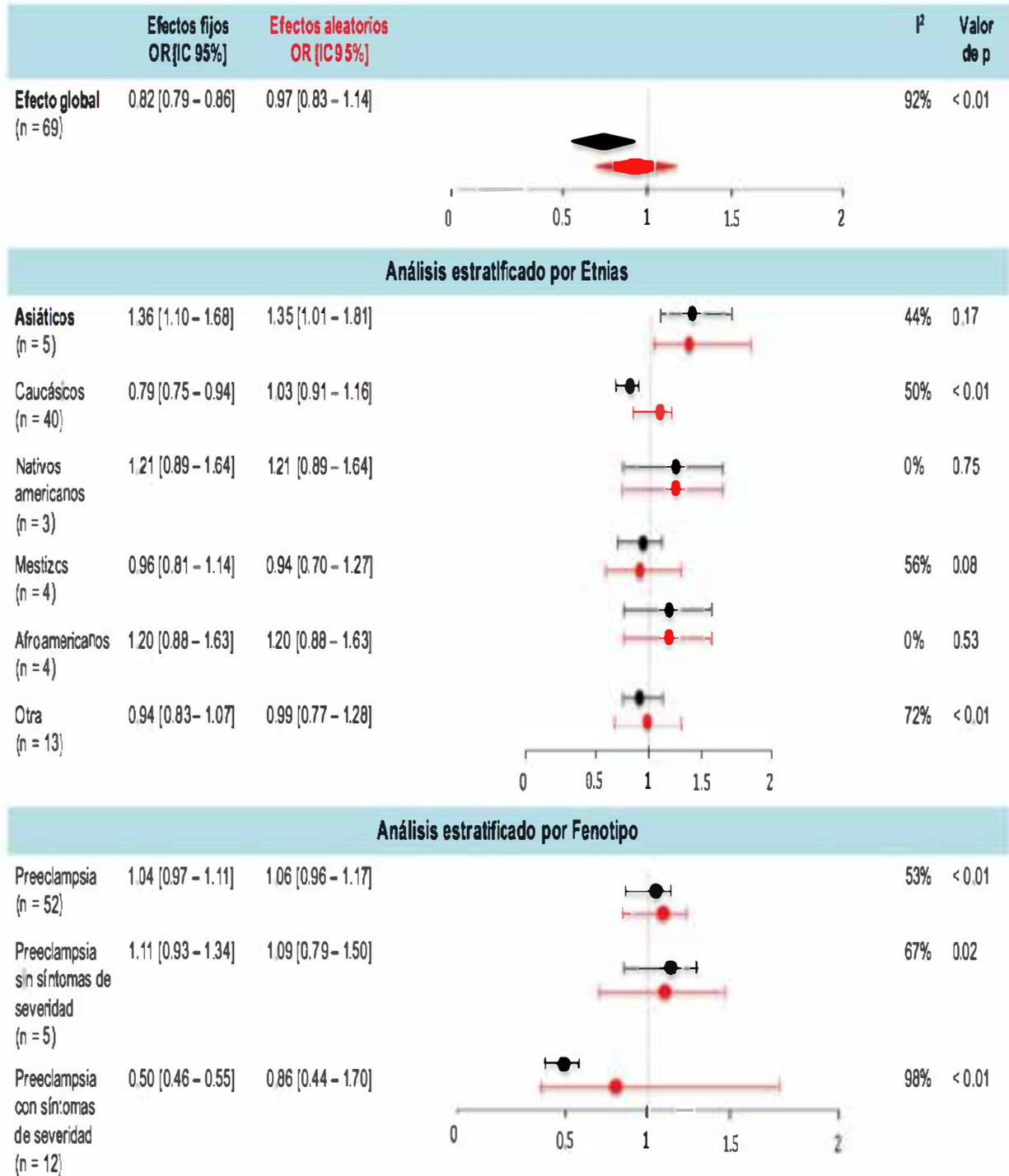


Figura 7. Meta-análisis general y estratificado del efecto de A1298C sobre preeclampsia

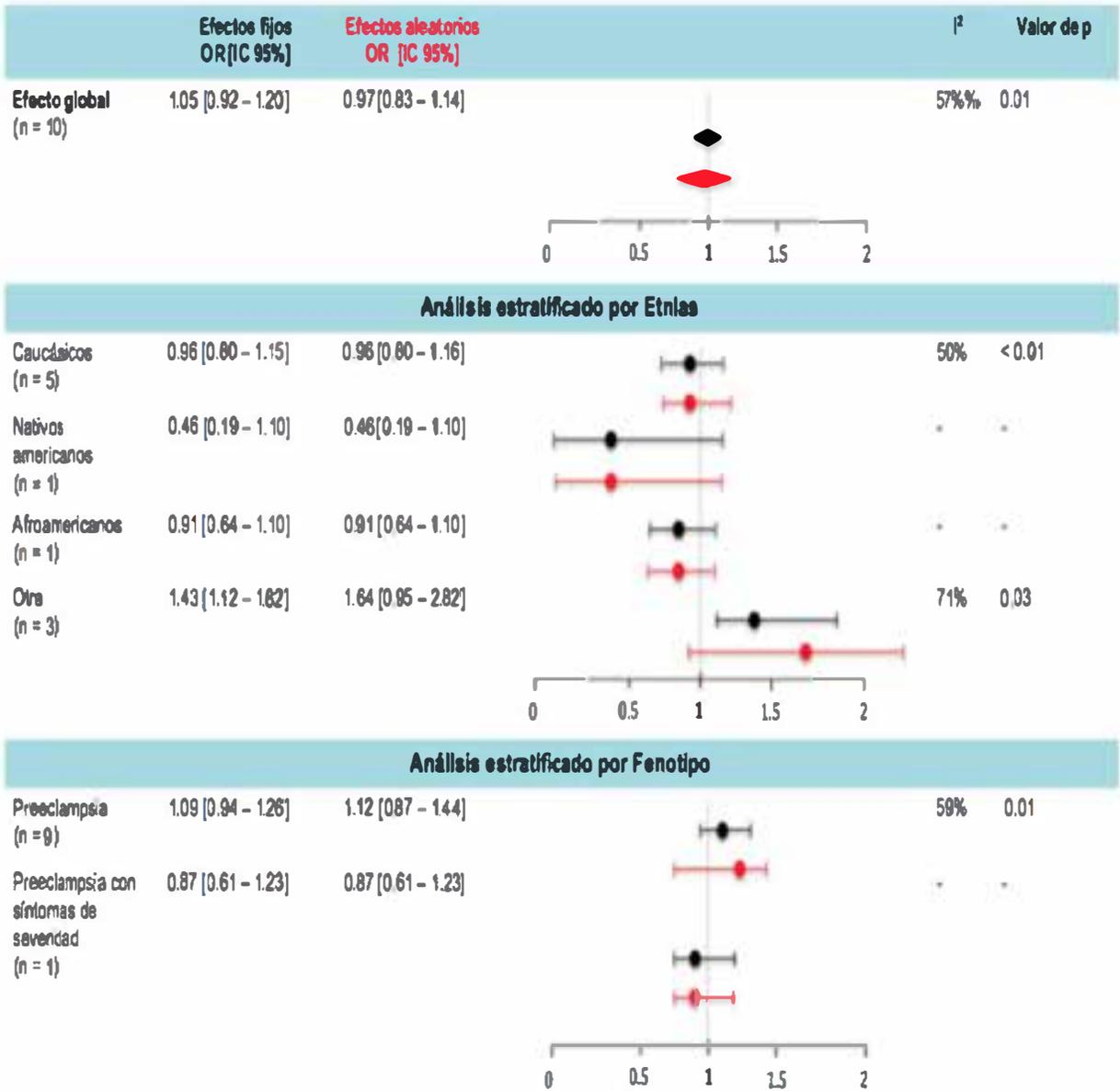
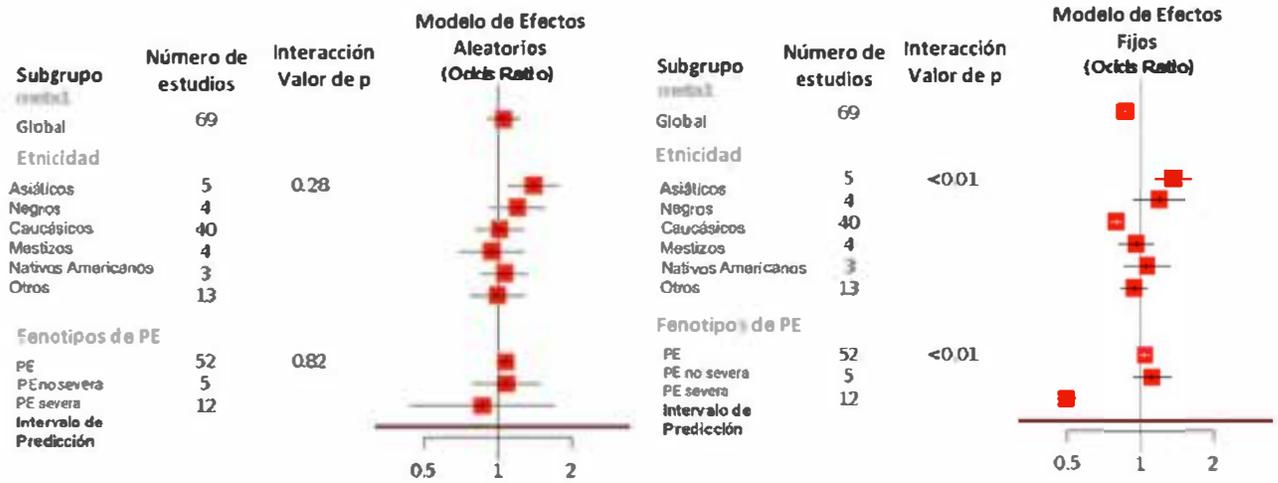


Figura 8. Resumen análisis por subgrupos del polimorfismo C677T . Análisis por subgrupos (etnicidad y fenotipos de preeclampsia) del polimorfismo C677T, modelo de efectos aleatorios y modelo de efectos fijos.



12. Discusión.

Actualmente la preeclampsia presenta una incidencia del 10% de los embarazos, colocándose como la segunda causa de muerte en mujeres embarazadas tanto a nivel mundial como en Latinoamérica. Se sabe que este padecimiento se presenta derivado de múltiples factores de riesgo, dentro de los cuales el factor genético aumenta hasta cuatro veces la probabilidad de padecerla. Sin embargo, no contamos con un modelo predictivo para evaluar su riesgo y realizar una prueba de tamizaje. Es por eso que se ha propuesto el estudio de diferentes polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) del gen *MTHFR*, que codifican la enzima metiltetrahidrofolato reductasa y que se consideran clave en la fisiopatología de los trastornos hipertensivos del embarazo.

Se realizó una revisión sistemática presentando los resultados de los dos SNP con mayor prevalencia, los cuales fueron C677T y A1298C. El primero de estos polimorfismos, el C677T, se encontró de forma más prevalente en países de Latinoamérica como México, Chile y Perú, con una prevalencia del 57% seguido de Estados Unidos, Canadá, Australia y algunas regiones de la Unión Europea. Sin embargo, su asociación con el riesgo de padecer preeclampsia no es la misma en cada una de sus poblaciones. En cuanto al efecto global, los participantes con el SNP C677T, presentan protección contra la enfermedad con un 18% de riesgo ($p < 0.01$), sin embargo, al realizar un análisis estratificado por etnias encontramos que en la población asiática, se presenta como un factor de riesgo con un 1.36 más de riesgo, mientras que en población caucásica se presenta como factor protector con un 21% menos de riesgo ($p < 0.01$). En las demás poblaciones estudiadas el SNP C677T no presenta asociación alguna con el riesgo de padecer la enfermedad. Al realizar la estratificación por fenotipo de preeclampsia encontramos a este SNP como factor protector en un 50% para la preeclampsia con criterios de severidad, la cual se sabe aumenta la morbilidad en las pacientes. En cuanto al SNP A1298C, encontramos que se presenta con mayor prevalencia en Chile y Australia, sin embargo, debemos tomar esta observación con cautela debido a que el número de artículos revisados fue muy bajo y en estas poblaciones encontramos que el SNP no presenta asociación estadísticamente significativa con la preeclampsia, inclusive cuando se realizó la estratificación por etnias y por fenotipo.

Al realizarse un plot de embudo encontramos un sesgo de publicación por falta de evidencia en este campo de estudio. La revisión sistemática fue realizada únicamente en las bases de datos Ovid/medline, VHL y Hugenet no obstante, éstas se consideran las más extensas.

13. Conclusiones.

En conjunto, nuestra evidencia sugiere que los SNP de *MTHFR* son predictores significativos del desarrollo de preeclampsia, especialmente el SNP C677T que tiene mayor asociación en población caucásica y como factor protector para el fenotipo de la preeclampsia con criterios de severidad. Sin embargo, se debe sugerir mayor desarrollo en este campo de estudio en el resto de los países y las demás etnias para obtener resultados genéticos de mayor calidad y evitar el sesgo de selección por falta de equilibrio de H-W. Con la finalidad conseguir mayor evidencia y lograr un estudio genético de tamizaje con un SNP del *MTHFR* como predictor del riesgo de preeclampsia en todas las poblaciones y así disminuir la tasa de mortalidad materna de manera global.

14. Bibliografía.

1. Roberts JM, Druzin M, August PA, et al. *ACOG Guidelines: Hypertension in Pregnancy*; 2012. doi:10.1097/01.AOG.0000437382.03963.88
2. Gestational Hypertension and Preeclampsia. ACOG Practice Opinion No. 202. American College of Obstetricians and Gynecologists. 2020;135(6):24.
3. Morales-Andrade E, Ayala-Hernández M^a I, Morales-Valerdi HF, Astorga-Castañeda M. Epidemiología de la muerte materna en México y el cumplimiento del Objetivo 5 del Desarrollo del Milenio, hacia los objetivos de desarrollo sostenible. :26.
4. Naciones Unidas. Informe de los Objetivos de Desarrollo Sostenible 2018. Published online 2018:40. doi:10.18356/70388b69-es
5. Say L, Chou D, Gemmill A, et al. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *Lancet Glob Health*. 2014;2(6):e323-e333. doi:10.1016/S2214-109X(14)70227-X
6. Myatt L. Role of Placenta in Preeclampsia. *Endocrine*. 2002;19(1):103-112. doi:10.1385/ENDO:19:1:103
7. Dawson LM. Familial Risk of Preeclampsia in Newfoundland: A Population-Based Study. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13(7):1901-1906. doi:10.1097/01.ASN.0000017224.24670.82
8. Bartsch E, Medcalf KE, Park AL, Ray JG. Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: systematic review and meta-analysis of large cohort studies. *BMJ*. Published online April 19, 2016:i1753. doi:10.1136/bmj.i1753
9. Boyi Y, Fan S, Xueyuan Z, et al. Associations of MTHFR Gene Polymorphisms with Hypertension and Hypertension in Pregnancy: A Meta-Analysis from 114 Studies with 15411 Cases and 21970 Controls. *PLoS ONE*. 2014;9(2). doi:http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0087497
10. Klai S, Fekih-Mrissa N, El Housaini S, et al. Association of MTHFR A1298C polymorphism (but not of MTHFR C677T) with elevated homocysteine levels and placental vasculopathies. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2011;22(5):374-378. doi:https://dx.doi.org/10.1097/MBC.0b013e328344f80f
11. Wu X, Yang K, Tang X, et al. Folate metabolism gene polymorphisms MTHFR C677T and A1298C and risk for preeclampsia: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32(5):797-805. doi:https://dx.doi.org/10.1007/s10815-014-0408-8
12. Yang B, Fan S, Zhi X, et al. Associations of MTHFR gene polymorphisms with hypertension and hypertension in pregnancy: a meta-analysis from 114 studies with 15411 cases and 21970 controls. *PLoS ONE*. 2014;9(2):e87497. doi:https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0087497
13. Lister Hill National Center for Biomedical Communications USNL of M, Health., National Institutes of Services D of H& H. MTHFR gene methylenetetrahydrofolate reductase. Published online 2018. doi:10.1530/EJE-17-0430
14. Ferreira González I, Urrútia G, Alonso-Coello P. Revisiones sistemáticas y metaanálisis: bases conceptuales e interpretación. *Rev Esp Cardiol*. 2011;64(8):688-696. doi:10.1016/j.recesp.2011.03.029
15. Jpt H. Manual Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones. Published online 2011:639.

16. Little J, Higgins JPT, Ioannidis JPA, et al. Strengthening the Reporting of Genetic Association Studies (STREGA)— An Extension of the STROBE Statement. *PLOS Med.* 2009;6(2):e1000022. doi:10.1371/journal.pmed.1000022
17. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLoS Med.* 2009;6(7):6.
18. Sahoo GS, Little J, Higgins JPT. Systematic reviews of genetic association studies. *PLoS Med.* 2009;6(3):0239–0245. doi:10.1371/journal.pmed.1000028
19. Cevallos M, Egger M. STROBE (Strengthening the Reporting of Observational studies in Epidemiology). In: Moher D, Altman DG, Schulz KF, Simera I, Wager E, eds. *Guidelines for Reporting Health Research: A User's Manual*. John Wiley & Sons, Ltd; 2014:169-179. doi:10.1002/9781118715598.ch17

15. Material Suplementario.

15.1 Aprobación de Comité en Investigación y Bioética

Peter Joseph Pappas Research Grant Application 2018

IRB SUBMISSION



UNIVERSIDAD
PANAMERICANA®

February 26th, 2018.

Francisco J. Estrada-Mena, PhD
Universidad Panamericana, School of Medicine
Molecular Biology and Biochemistry
festrada@up.edu.mx

Notification of Receipt.

Dear Dr. Francisco J Estrada-Mena,

On 02/22/2018, the Universidad Panamericana Institutional Review Board received the following submission:

Type of Review:	Protocol submission.
Title of Study:	Predictive genetic signature for proctocarpal phenotypes.
Investigator(s):	PI: Francisco J. Estrada-Mena, MSc PhD Co-I: Maria de Lourdes Martinez-Villaseñor, PhD Co-I: Andric C. Perez-Ortiz, MD MPH Co-I: Juan C. de la Cerda-Angelier, MD
IRB Protocol ID:	E - 1805
Documents:	Letter of intent / protocol.

This letter serves as a notification of receipt. The Universidad Panamericana IRB will review this protocol and communicate to you our decision promptly. The status of your submission is under review, pending approval.

If you wish to change any aspect of this study, such as the procedures or processes, the informed consent document(s), recruitment activities, or want to add or remove investigators or study personnel, you must submit a modification to the study. Any changes must be reviewed and further approved by the IRB.

Sincerely,

Dra. Ma. Lourdes Gonzalez R.
Head of the Bioethics in Investigation Committee
Universidad Panamericana, School of Medicine

Centros Culturales de México, A.C.

Augusto Rodin 498, Col. Insurgentes Mixcoac, 03920 Ciudad de México, Tels. 5482-1600 y 5482-1198 www.up.edu.mx

15.2 Tablas de resultados

SNP	N	Citación
C677T	49	
A1298C	17	
A313G	4	
A4070G	2	
G1691A	1	
A2572C	1	
C4869G	1	

Tabla 1. Polimorfismos de un solo nucleótido MTHFR investigados para cualquier fenotipo de preeclampsia

SNP	N	Porcentaje %
A1298C	9	14.29%
A2572C	2	3.17%
C677T	49	77.78%
G4869C	2	3.17%
rs1736	1	1.59%

Tabla 2. Porcentaje de Polimorfismos de un solo nucleótido *MTHFR*

Min	Max
1997	2018

Tabla 3. Rango de años de estudios valorados

Países	N	Porcentaje
--------	---	------------

Australia	2	3.17%
Austria	1	1.59%
Brasil	2	3.17%
Canadá	1	1.59%
Chile	2	3.17%
Dinamarca	2	3.17%
Ecuador	2	3.17%
Egipto	1	1.59%
Finlandia	3	4.76%
Hungría	2	3.17%
India	1	1.59%
Indonesia, Alemania, Croacia	1	1.59%
Irán	5	7.94%
Irlanda	1	1.59%
Israel	1	1.59%
Italia	1	1.59%
Japón	4	6.35%

México	4	6.35%
Países Bajos	6	9.52%
Noruega, Australia	1	1.59%
Perú	1	1.59%
Escocia	1	1.59%
Sudáfrica	3	4.76%
España	3	4.76%
Sri Lanka	2	3.17%
Túnez	2	3.17%
Turquía	1	1.59%
Reino Unido	1	1.59%
Ucrania	1	1.59%
Reino Unido	1	1.59%
Estados Unidos	1	1.59%
Estados Unidos	2	3.17%
Zimbabwe	1	1.59%

Tabla 4. Porcentaje artículos estudiados por país

Etnias	N	Porcentaje
Asiática	4	6.35%
Negra	4	6.35%
Caucásico	32	50.79%
Mestizo	4	6.35%
Nativo Americano	4	6.35%
Otro	15	23.81%

Tabla 5. Porcentaje de poblaciones estudiadas

Criterios Diagnósticos	N	Porcentaje
ACOG	44	69.84%
Else	19	30.16%

Tabla 6. Porcentaje de criterios diagnósticos utilizados para el diagnóstico de preeclampsia

Tipo de estudios	Media	Desviación Estándar	Mediana	Rango Intercuartil
Casos	127.96774194	94.449043898	111.5	113
Controles	260.38709677	350.67192434	142.5	167.75

Tabla 7. Media y mediana

rs	Autores.	Año	País	Etnia	Criterios Diagnósticos	N	N de	N de	Alelo	P	Q	Alelo	MAF	HWE valor - P
							casos	controles						
A1298C	Also-Rallo	2005	España	Caucásicos	ACOG	165	86	244	A	248	82	C	0.2485	0.3992
A1298C	Chedraui	2014	Ecuador	Otra	ACOG	300	127	149	A	486	114	C	0.19	0.4597
A1298C	Dissanayake	2012	Sri Lanka	Otra	ACOG	344	160	159	A	466	222	C	0.3227	0.2416
A1298C	Kaiser	2000	Australia	Caucásicos	Else	256	134	95	A	328	184	C	0.3594	0.986
A1298C	Klai	2011	Tunez	Otra	Else	303	88	200	A	273	15	C	0.0521	0.9363
A1298C	Lachmeijer	2001	Noruega	Caucásica	ACOG	379	47	120	A	212	122	C	0.3653	0.2161
A1298C	Pegoraro	2004	Sudáfrica	Negra	ACOG	609	542	676	A	1074	144	C	0.1182	0.341
A1298C	Perez-Sepulveda	2013	Chile	Nativa Americana	ACOG	48	11	18	A	39	57	C	0.5938	0.9854
A1298C	Zusterzeel	2000	Noruega	Caucásica	ACOG	484	71	365	A	660	308	C	0.3182	0.5819
G4869C	Mohammedpour	2017	Irán	Otra	ACOG	369	198	170	G	689	49	C	0.0664	0.8738
G4869C	Mohammedpour	2018	Irán	Otra	ACOG	149	72	73	G	266	32	C	0.1074	0.9383
rs1736	Thomsen	2017	Noruega, Australia	Caucásica	ACOG	-	-	-	A	-	-	G	0.13	-
A2572C	Mohammedpour	2017	Irán	Otra	ACOG	369	138	117	A	329	409	C	0.5542	0.9822
A2572C	Mohammedpour	2018	Irán	Otra	ACOG	149	58	54	A	143	155	C	0.5201	0.8051
C677T	Aggarwal	2011	India	Otra	ACOG	400	200	200	C	679	121	T	0.1513	0.8635
C677T	Alfirevic	2001	Reino Unido	Caucásica	Else	107	56	42	C	105	107	T	0.5047	0.5163
C677T	Also-Rallo	2005	España	Caucásica	ACOG	165	35	95	C	179	151	T	0.4576	0.815
C677T	Canto	2008	México	Mestiza	ACOG	399	250	548	C	391	407	T	0.51	0.8193
C677T	Chedraui	2014	Ecuador	Otra	ACOG	300	132	138	C	376	224	T	0.3733	0.0024
C677T	Chikosi	1999	Sudáfrica	Negra	ACOG	215	104	110	C	397	33	T	0.0767	0.805
C677T	Coral	2013	México	Mestiza	ACOG	582	147	237	C	493	671	T	0.5765	0.7348
C677T	D'Elia	2002	Italia	Caucásica	ACOG	132	52	65	C	176	89	T	0.3352	0.9805
C677T	Dalmaz	2006	Brasil	Caucásica	ACOG	220	150	290	C	292	148	T	0.3364	0.1472
C677T	Davalos	2005	México	Mestiza	ACOG	95	66	124	C	115	75	T	0.3947	0.7824
C677T	De Maat	2004	Países Bajos	Caucásica	ACOG	314	137	138	C	416	212	T	0.3376	0.8989
C677T	Dissanayake	2012	Sri Lanka	Otra	ACOG	346	172	169	C	619	73	T	0.1055	0.8687
C677T	Dusse	2007	Brasil	Mestizo	ACOG	113	28	77	C	167	59	T	0.2611	0.9602

C677T	Hamada	2001	Japón	Asiática	ACOG	357	99	192	C	420	294	T	0.4118	0.9693
C677T	Hiltunen	2009	Finlandia	Caucásica	Else	923	234	643	C	1407	439	T	0.2378	0.2805
C677T	Ibrahim	2011	Egipto	Otra	ACOG	88	44	44	C	98	78	T	0.4432	0.0083
C677T	Jääskeläinen	2006	Finlandia	Caucásica	ACOG	245	266	224	C	371	119	T	0.2429	0.9998
C677T	Kahn	2009	Canadá	Caucásica	Else	556	113	443	C	726	386	T	0.3471	0.3397
C677T	Kaiser	2000	Australia	Caucásica	Else	235	137	68	C	313	157	T	0.334	0.567
C677T	Kim YJ	2001	USA	Caucásica	ACOG	641	248	319	C	865	417	T	0.3253	0.7746
C677T	Klaj	2011	Túnez	Otra	Else	303	88	200	C	225	63	T	0.2188	0.0532
C677T	Kobashi	2000	Japón	Asiática	Else	288	65	182	C	355	221	T	0.3837	0.9277
C677T	Kupferminc	2000	Israel	Caucásica	ACOG	189	15	12	C	-	-	T	-	NA
C677T	Lachmeijer	2001	Noruega	Caucásica	ACOG	379	227	109	C	493	265	T	0.3496	0.999
C677T	Laivuori	2000	Finlandia	Caucásica	ACOG	216	113	103	C	325	107	T	0.2477	0.9992
C677T	Lauszus	2009	Dinamarca	Caucásica	Else	1130	43	997	C	1603	658	T	0.2909	0.8222
C677T	Livingston	2001	USA	Otra	ACOG	207	110	97	C	316	95	T	0.2311	0.3358
C677T	Lykke	2012	Dinamarca	Caucásica	ACOG	3883	231	1699	C	2949	1259	T	0.2992	0.2401
C677T	Mislanova	2011	Ucrania	Caucásica	Else	68	23	38	C	94	42	T	0.3088	0.8263
C677T	Morrison	2002	Escocia	Caucásica	Else	568	362	147	C	759	377	T	0.3319	0.8111
C677T	Murphy	2000	Irlanda	Caucásica	Else	584	37	484	C	753	415	T	0.3553	0.0938
C677T	Nagy	2007	Hungría	Caucásica	Else	174	101	73	C	240	108	T	0.3103	0.7032
C677T	O'Shaughnessy	1999	Reino Unido	Caucásica	Else	383	252	88	C	529	295	T	0.358	0.978
C677T	Pegoraro	2004	Sudáfrica	Negra	ACOG	609	271	338	C	1136	82	T	0.0673	0.8101
C677T	Perez-Mutul	2004	México	Nativo americana	ACOG	638	148	177	C	284	366	T	0.5631	0.5865
C677T	Perez-Sepulveda	2013	Chile	Nativo Americana	ACOG	48	9	20	C	41	55	T	0.5729	0.2227
C677T	Powers	1999	USA	Caucásica	ACOG	213	84	100	C	273	153	T	0.3592	0.6964
C677T	Prasmusinto	2002	Indonesia, Alemania, Croacia	Otra	Else	180	77	87	C	268	92	T	0.2556	0.3045
C677T	Rahimi	2013	Irán	Otra	ACOG	229	119	97	C	343	115	T	0.2511	0.3158
C677T	Rajmakers	2001	Noruega	Caucásica	Else	570	146	367	C	790	350	T	0.307	0.8863
C677T	Rajkovic	2000	Zimbabue	Negra	Else	354	170	183	C	646	62	T	0.0876	0.4318
C677T	Rigo	2000	Hungría	Caucásica	ACOG	221	231	1699	C	147	295	T	0.6674	0.1267

C677T	Sohda	1997	Japón	Asiática	ACOG	165	51	87	C	195	135	T	0.4091	0.7185
C677T	Stiefel	2009	España	Caucásica	ACOG	318	184	134	C	405	231	T	0.3632	0.6024
C677T	Stonek	2008	Austria	Caucásica	ACOG	1531	15	1346	C	2092	970	T	0.3168	0.137
C677T	Williams	2004	Peru	Nativa Americana	ACOGI	304	98	147	C	344	256	T	0.4267	0.9956
C677T	Yilmaz	2004	Turquia	Caucásica	Else	111	64	47	C	151	71	T	0.3198	0.58
C677T	Yoshida	2008	Japón	Asiática	Else	165	52	113	C	201	129	T	0.3909	0.755
C677T	Zusterzeel	2000	Noruega	Caucásica	ACOG	579	146	367	C	790	350	T	0.307	0.8863

15.3 Registro del protocolo en PROSPERO

Identification of potential genomic biomarkers predictors for preeclampsia risk: a systematic review and meta-analysis

Andric Christopher Perez-Ortiz, Eugenia Moran-Orozco, Benito Estrada-Mena, Aimee Dominguez-Nieto, Esmeralda Lira-Romero, Maria Fernanda Ortega-Treviño, Jorge Arturo Izquierdo-Limon, Valeria Sandoval-Martinez, Eduardo Saad-Canales, Daniela Gutierrez-Arredondo, David Jimenez-Collado, Salvador Jimenez-Chaldez, Francisco Javier Estrada-Mena

Citation

Andric Christopher Perez-Ortiz, Eugenia Moran-Orozco, Benito Estrada-Mena, Aimee Dominguez-Nieto, Esmeralda Lira-Romero, Maria Fernanda Ortega-Treviño, Jorge Arturo Izquierdo-Limon, Valeria Sandoval-Martinez, Eduardo Saad-Canales, Daniela Gutierrez-Arredondo, David Jimenez-Collado, Salvador Jimenez-Chaldez, Francisco Javier Estrada-Mena. Identification of potential genomic biomarkers predictors for preeclampsia risk: a systematic review and meta-analysis. PROSPERO 2018 CRD42018090519 Available from: https://www.crd.york.ac.uk/prospERO/display_record.php?ID=CRD42018090519

Review question

P: Pregnant women, gestational age greater than 20 weeks and 12 weeks postpartum.

I: Genomic biomarkers (including SNPs, miRNAs, CNVs, etc.) (Minor allele carriers considered as exposed)

C: Major allele carriers (Taken as unexposed).

O: Risk of pre-eclampsia phenotypes (PE, PE with severe symptoms, and eclampsia).

In pregnant and puerperal women diagnosed with any phenotype of preeclampsia-eclampsia, does any genomic biomarker (e.g., SNP, CNV, indel, miRNA) significantly influence the probability of being diagnosed? Additionally, is any biomarker associated with a severe phenotype?

Searches

We are conducting a systematic search in MEDLINE, EMBASE, HuGENET, LILACS, ProQuest, and PubMed databases without any language restrictions. A priori, we established a comprehensive matrix of search including control vocabulary and boolean logic operators. We will include observational studies of all phenotypes of pre-eclampsia (PE) (PE, PE with severe symptoms, and eclampsia) from women around 20 gestational weeks and puerperium. Included studies should follow the tenants of Helsinki and follow the diagnostic guidelines of the American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG). All genotype data must be determined with validated genotyping instruments and should reflect a stringent quality check (e.g., genotyping call rate \geq 95%, Hardy-Weinberg equilibrium in controls, etc.). We will abstract critical demographics and number of PE cases and controls with a given genotype. Our primary outcome will be the proportions of all PE phenotypes based on their genotype. Proportions of gestational hypertension and HELLP syndrome and serum biomarkers will be secondary goals. We will perform a meta-analysis of these measurements using random and fixed effects models. Additionally, we will examine inter-study heterogeneity with a meta-regression model.

Types of study to be included

All observational studies and randomized controlled trials if applicable are going to be considered for this review. Abstracts and full published reports will be examined to create a comprehensive list of all current genomic markers for PE (additionally for HELLP and/or gestational hypertension, see Secondary outcomes). To avoid information bias, we will include all studies with a valid genotyping methodology and results in duplicate from blinded technicians. To decrease the risk of selection bias in our estimates, all studies must follow current preeclampsia diagnostic guidelines endorsed by the American College of Obstetricians and

Gynecologists (ACOG) and have a full description of their cases and controls.

Condition or domain being studied

Preeclampsia (PE) refers to the new onset of hypertension and proteinuria, or hypertension and end-organ dysfunction with or without proteinuria after 20 weeks of gestation up to 12 weeks postpartum in a previously normotensive woman (it may also refer to worsening blood pressure and proteinuria in women with a history of chronic pre-pregnancy hypertension). This disorder is caused by placental and maternal vascular dysfunction, which includes deficient trophoblast invasion of the endometrium and myometrium, and defective remodeling of the spiral arteries during the 18-20th weeks of gestation. These defects cause poor placental perfusion and ischemic lesions. Ischemic and dysfunctional endothelial cells produce altered quantities of vasoactive mediators (which causes pathological vasoconstriction) and proinflammatory factors.

PE may affect up to 4.6% of pregnant women worldwide. Though affected women will most likely fully recover after the delivery or 12 weeks postpartum at the most, they can also experience several life-threatening complications such as eclampsia (additional development of seizures, in the absence of other neurological predisposing conditions), HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count), placental abruption, preterm birth, and death (preeclampsia/eclampsia account for 10-15% of direct maternal deaths). Although multiple risk factors have already been discovered through clinical and large cohort studies, the molecular underpinnings are currently unknown. Nevertheless, PE has a clear genetic component. Women whose mothers had preeclampsia were more likely to have the condition in their pregnancies and men born after a pregnancy complicated by preeclampsia were more likely to father a pregnancy complicated by preeclampsia. Also, for both women and men, familial preeclampsia was associated with more severe preeclampsia in the index pregnancy.

Participants/population

We will include publications that evaluate pregnant women from week 20 of pregnancy until 12 weeks postpartum. The following parameters need to follow current diagnostic recommendations or guidelines endorsed by the ACOG/AHA:

1. Hypertension should be defined as either a systolic blood pressure of 140 mm Hg or greater, a diastolic of 90 mm Hg or greater or both. The diagnosis requires at least two determinations 4 hours apart each. The optimal measurement of the blood pressure must be made with the patient seated, legs uncrossed, with arms and back supported, relaxed and not talking during the procedure. If elevated on the initial assessment the measurement should be repeated after several minutes.
2. Proteinuria should be defined with excretion of 300 mg in 24 hours or the ratio protein/creatinine in a single voided urine of 0.3 mg/dl or a qualitative dipstick reading of 30 mg/dL.
3. Preeclampsia is a multisystemic syndrome which develops hypertension in the second half of pregnancy in previously normotensive women. The new-onset of proteinuria is often associated, but in its absence, hypertension with end-organ dysfunction with new-onset of any of the following may confirm the diagnosis; sudden manifestation of signs and symptoms (right upper quadrant pain, severe headaches or visual disturbances, pulmonary edema), or a biochemical alterations (impaired liver enzymes, platelet levels below 100,000/microliter, creatinine level doubled or above 1.1 in women without other renal disease and a sustained increase in protein excretion) or blood pressure greater than or equal to 160 mm Hg systolic or greater than or equal to 110 mm Hg systolic hypertension.
4. Eclampsia should be defined as the presence of new-onset of grand mal seizures in women with preeclampsia. It may occur before, during or after labor.
5. Chronic hypertension is defined as a high blood pressure that preceded the conception, or that is diagnosed before 20 weeks of gestation, or that persist longer than 12 weeks postpartum.
6. Preeclampsia may complicate other hypertensive disorders; the diagnosis of chronic hypertension with superimposed preeclampsia is made in a patient with chronic hypertension that develops a new-onset of proteinuria, exacerbation of hypertension, or any manifestation of signs, symptoms or biochemical alterations of preeclampsia.

7. Gestational hypertension should be defined as a new-onset of elevated blood pressure after 20 weeks of gestation, often near term, in the absence of proteinuria.

Intervention(s), exposure(s)

We will include observational studies that determine genotype based on validated genotyping instruments and all results are corroborated by triplicate from blinded experienced operators. Preeclampsia phenotypes must follow the ACOG guidelines.

Comparator(s)/control

All observational studies that determine genotype based phenotypes of PE are going to be considered for this review. For determining cases included studies should follow diagnostic guidelines of the ACOG.

Main outcome(s)

The primary outcome will be the proportions of all PE phenotypes based on their genotype. For assessing severity, studies done before 2013, we will abstract such data following the previous classification (mild PE, severe PE, eclampsia). Studies after 2013 should follow the new diagnostic guideline (PE with/without severe symptoms, eclampsia) to be considered for review.

Additional outcome(s)

Enlisting all genomic biomarkers currently researched (e.g., SNP, CNV, Indel, miRNA, etc.) will be a secondary outcome of this systematic review. Additionally, we will aim to determine the usefulness of such biomarkers in gestational hypertension and HELLP syndrome.

Data extraction (selection and coding)

Data will be collected based on a standardized format of the STREGA recommendations for reporting genetic association studies (Little et al., 2009) and published evidence on likely variables of interest in genetic epidemiology (Sagoo, Little, & Higgins, 2009). Extracted data will include study design (such as GWAS, cohort, case-control, cross-sectional), statement regarding if the study is the first report of a genetic association, a replication effort, or both, definition of PE cases, description of the laboratory methods including source, storage and genotyping approaches and platforms, sample size calculation, essential descriptive data, main outcome of interests (genotypes, phenotypes and other exposures) and measures of association (OR, HR, RR with appropriate 95% confidence interval). Each reviewer will independently assess each paper for data collection and extraction. Similarly, any disagreements will be consulted with a third field expert reviewer.

Risk of bias (quality) assessment

Bias will be assessed based on the updated Cochrane Back Review Group criteria. As this protocol concerns genetic epidemiology selection bias regarding phenotype or genotype information will include whether cases have been appropriately diagnosed, or even excluding familial or syndromic cases. Also, regarding information bias, all studies must prove results in duplicate. Bias will be independently assessed by five reviewers. In the event of disagreement a third expert reviewer will be consulted.

Strategy for data synthesis

If possible, relatively homogenous results (I^2 less than 75%) will be combined and analyzed through meta-analysis. Forest plots will be drafted to evidence the individual effect of each genetic biomarker on PE diagnosis. The quality of each study will be assessed according to the guidelines for reporting genetic biomarkers adapted for this study (Altman, McShane, Sauerbrei, & Taube, 2012) and the STREGA recommendations (Little et al., 2009).

Analysis of subgroups or subsets

Clinical diversity can be encountered if some observational studies differ in setting, participants (especially different races/ethnicities with differential genome pattern), or even outcome measure (ascertainment of the diagnosis based on other recommendations than the ACOG). The above might lead to statistical heterogeneity increased in this type of genetic association studies by conflicting evidence among subsets of the population. To assess heterogeneity a χ^2 test at the 0.05 level of significance will be used. P values greater than 75% will be considered highly heterogeneous, between 25-75% moderately and less than 25% comparable. Highly heterogeneous studies will be analyzed using a random-effects model, the rest with a fixed-effect model. Additionally, we will perform a meta-regression model to address any statistically

significant heterogeneity adjusting for the journal, inter-study, and clinical parameters.

Contact details for further information

Andric Christopher Perez - Ortiz Md, MPH and Francisco Javier Estrada - Mena MSc, PhD.
andric.perez-ortiz@yale.edu

Organisational affiliation of the review

Yale University. School of Public Health.
Universidad Panamericana. School of Medicine.

Review team members and their organisational affiliations

Dr Andric Christopher Perez-Ortiz. MD MPH. Yale University School of Public Health. UP
Dr Eugenia Moran-Orozco. MD. Universidad Panamericana. School of Medicine. UNAM
Dr Benito Estrada-Mena. PhD. Universidad Autónoma Nacional de México (UNAM)
Dr Aimee Dominguez-Nieto. PhD.
Mrs Esmeralda Lira-Romero. MSc. Universidad Panamericana. School of Medicine.
Miss Maria Fernanda Ortega-Treviño. MBBS. Universidad Panamericana. School of Medicine.
Mr Jorge Arturo Izquierdo-Limon. MBBS. Universidad Panamericana. School of Medicine.
Miss Valeria Sandoval-Martinez. MBBS. Universidad Panamericana. School of Medicine.
Mr Eduardo Saad-Canales. MBBS. Universidad Panamericana. School of Medicine.
Miss Daniela Gutierrez-Arredondo. MBBS. Universidad Panamericana. School of Medicine.
Mr David Jimenez-Collado. MBBS. Universidad Panamericana. School of Medicine.
Mr Salvador Jimenez-Chaldez. MBBS. Universidad Panamericana. School of Medicine.
Dr Francisco Javier Estrada-Mena. PhD. Universidad Panamericana. School of Medicine.

Type and method of review

Diagnostic, Meta-analysis, Systematic review, Other

Anticipated or actual start date

01 January 2018

Anticipated completion date

28 December 2018

Funding sources/sponsors

No funding

Conflicts of interest

Language

English, French, Spanish

Country

Mexico, United States of America

Published protocol

https://www.crd.york.ac.uk/PROSPEROFILES/90519_PROTOCOL_20180306.pdf

Stage of review

Review Ongoing

Subject index terms status

Subject indexing assigned by CRD

Subject index terms

Biomarkers; Female; Genomics; Humans; Pre-Eclampsia; Pregnancy; Risk Factors

Date of registration in PROSPERO

12 March 2018

Date of first submission
05 March 2018

Stage of review at time of this submission

Stage	Started	Completed
Preliminary searches	Yes	Yes
Piloting of the study selection process	Yes	Yes
Formal screening of search results against eligibility criteria	Yes	No
Data extraction	Yes	No
Risk of bias (quality) assessment	Yes	No
Data analysis	Yes	No

The record owner confirms that the information they have supplied for this submission is accurate and complete and they understand that deliberate provision of inaccurate information or omission of data may be construed as scientific misconduct.

The record owner confirms that they will update the status of the review when it is completed and will add publication details in due course.

Versions

12 March 2018
22 March 2018

PROSPERO

This information has been provided by the named contact for this review. CRD has accepted this information in good faith and registered the review in PROSPERO. The registrant confirms that the information supplied for this submission is accurate and complete. CRD bears no responsibility or liability for the content of this registration record, any associated files or external websites.

15.4 Resúmenes en congresos internacionales

11/4/2019

ACMG

2019

ACMG Annual
Clinical Genetics Meeting

APRIL 28 | ABSTRACT DATES: APRIL 3-5
APRIL 6 | CO-LOCATED JOINT SESSION

WASHINGTON STATE
CONFERENCE CENTER | SEATTLE

Systematic Review and Meta-Analysis of MTHFR Genomic Biomarkers and Preeclampsia

Topic: Clinical genetics and therapeutics

First Author: Eugenia Moran-Crozza, MD, Hospital General Enrique Cabrera Casco

Presenting Author: Eugenia Moran-Crozza, MD, Hospital General Enrique Cabrera Casco

Co-Author: D. Gutiérrez-Arreola, Universidad Panamericana, School of Medicine; M. Ortega-Treviño, Universidad Panamericana, School of Medicine; J. Caporaso-Limón, Universidad Panamericana, School of Medicine; V. Sánchez-Vázquez, Universidad Panamericana, School of Medicine; D. Jiménez-Salido, Universidad Panamericana, School of Medicine; F. Estrada-Ruiz, Universidad Panamericana, School of Medicine; A. Pérez-Ortiz, Massachusetts General Hospital, Transplant Center

Session Type: Poster

Description

MTHFR is consistently linked with the development or prognosis of PE. Here, we aimed to test the effect of all-genomic biomarkers in this gene on PE. We conducted a systematic search in MEDLINE and HUGO databases and included observational studies of all phenotypes of pre-eclampsia, those who determined genotype based on validated genotyping instruments and with a stringent quality check. We analyzed 218 records. Here we present our findings from the C677T (rs1801133), in fixed ($p = 0.007$) and random ($p = 0.960$) effects. T-allele carriers compared to C-allele have 13% increased odds of PE, with significant heterogeneity ($I^2: 63\%$, $p < 0.001$). In subgroup analyses, non-Hispanics have the greatest chance of developing PE. T-allele carriers compared to C-allele have significantly increased odds (OR 1.18, $p = 0.010$), within heterogeneity ($I^2: 0\%$, $p = 0.930$) (Figure). Our preliminary data indicate that MTHFR is a promising pivotal gene for preeclampsia, for example, the T-allele carriers of the rs1801133 have significantly higher odds of disease among non-Hispanics.

9872

Submitter Files:

[Chart](#)

[Chart](#)

[Return to Abstract Search](#)

[Return to Home Page](#)

Copyright © 2019 ACMG



Yale

Influence of the *MTHFR* single nucleotide polymorphisms in the susceptibility of preeclampsia: Systematic review and meta-analysis

Rafael Casals-Lamprión, MD, Ana Espin-Baños, MD, Susu Abaitua-Agüero, MD, MªPilar, Rafael de Mendaza-Ojeda, M.D., María Ferrández-González, Patricia Aldasoro, MD, Beatriz Escalada-Arriaga, MS, PhD, Izabela Leiva-Santoro, BS, Jorg A. Lajudis-Layola, MD, Yelena Lindholm-Merisier, MD, Patricia J. González-Solera, MS, PhD, Daniel C. Pardo-Olivas, MD, PhD



Introduction

- Preeclampsia (PE) prevalence worldwide 2-8%. Maternal mortality is higher for stillborns and under 15 years old, especially for low developed countries [1,2].
- Complex to understand. It occurs in 8-10% of European pregnancies and with 80% increase over 10 weeks to low developed and majority (however, not only in rich) Asian countries an individual risk profile per race but *MTHFR* is associated related with the development a pregnancy risk of PE.
- MTHFR* is involved in homocysteine synthesis. Homocysteine of homocysteine leads to hyperhomocysteinemia. The *C677T* and *A1298C* polymorphisms of homocysteine synthase (*MTHFR*) and is linked to *MTHFR* reduced activity [3,4].
- Since PE has high prevalence compared to other individual risk factors, it is one of the genetic markers of pregnancy.

Objectives

We aimed to test the effect of SNPs (*C677T* and *A1298C*) of the *MTHFR* gene on the risk of preeclampsia (PE) on PE risk and explore a differential by ethnicity.

- Aim 1: To estimate the effect of *C677T* and *A1298C* of *MTHFR* on PE.
- Aim 2: To evaluate the effect of *C677T* and *A1298C* SNPs and *MTHFR* gene on PE.
- Aim 3: To evaluate the association between *C677T* and *A1298C* SNPs and PE diagnosis and PE severity.

Methods

Systematic search
PRISMA 2020
CONSENSUS

Qualitative analysis
STREGA/STARD
Risk assessment [5]

Meta-analysis
Random-effects
Forest plots
Change maps of PE

Results

Figure 1. Flow of references by PRISMA 2020.

Pool of articles from a systematic search in Medline
N = 239

Number of articles from both sources with duplicates
N = 218

Articles screened after screening duplicated results
N = 205

Full-text articles screened for eligibility
N = 213

Studies included in quantitative synthesis

- All SNPs: N = 63
- *C677T*: N = 40
- *A1298C*: N = 9
- *A1298C*: N = 2
- *C677T*: N = 2
- *C677T/A1298C*: N = 1

Supplemental pool from reference mining and grey literature
N = 99

Excluded articles (n = 33)

- Animal studies (n = 2)
- Abstracts (n = 11)
- Duplicate of Peer Review (n = 10)
- Not available to download abstract (n = 0)

Full-text excluded (n = 160)

- Wrong genotype (n = 40)
- Wrong ethnicity (n = 14)
- Wrong region (n = 0)
- Wrong study (n = 14)
- Wrong population (n = 7)
- Other reasons (n = 0)

C677T Results

Figure 3. C677T MAP Chromopleth and bubble maps



Ethnicity	Fixed effect OR (95% CI)	Random effects OR (95% CI)	I ²	P
Overall	0.42 [0.30, 0.59]	0.47 [0.30, 0.74]	2% [0%, 85%]	<0.01
Europe	2.04 [0.97, 4.28]	1.21 [0.40, 3.57]	81% [20%, 97%]	<0.001
Asia	1.20 [1.10, 1.40]	1.02 [1.02, 1.01]	44% [0%, 89%]	0.17
Caribbean	1.00 [0.94, 1.11]	1.00 [0.90, 1.10]	50% [0%, 71%]	<0.01
African	0.70 [0.62, 0.80]	0.70 [0.62, 0.80]	0%	0.76
Hispanic	2.21 [0.40, 12.41]	1.21 [0.21, 6.94]	9%	0.53
Other	1.21 [0.89, 1.63]	1.20 [0.89, 1.63]	0%	0.85

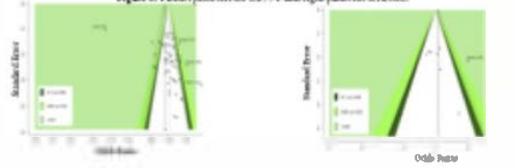
A1298C Results

Figure 4. A1298C MAP Chromopleth and bubble maps



Ethnicity	Fixed effect OR (95% CI)	Random effects OR (95% CI)	I ²	P
Overall	1.08 [0.92, 1.26]	1.08 [0.87, 1.34]	87% [13%, 99%]	0.01
Europe	1.08 [0.94, 1.24]	1.12 [0.87, 1.44]	59% [14%, 86%]	0.01
Caribbean	0.96 [0.80, 1.14]	0.86 [0.80, 1.10]	0%	0.08
Hispanic	0.46 [0.18, 1.10]	0.46 [0.18, 1.10]	0%	0.10
Other	0.91 [0.64, 1.27]	0.91 [0.64, 1.27]	0%	0.59

Figure 5. Funnel plots for C677T and A1298C.



Discussion and conclusions

Our PE:

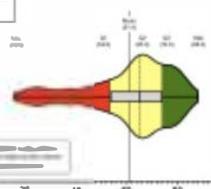
- In our prevalence in Latin America (Caribbean and Chile)
- Results show a 40% more likely to have PE
- Caribbean individuals prevalence (80%) but probability of developing the disease has a low relative effect
- A1298C, but no significant association with the probability of developing PE

(PE) = Evidence of publication bias
• Data heterogeneity

Quality assessments and risk of bias

Figure 2. Quality assessments and risk of bias.

Method	High	Uncertain	Low
Mendelian randomization	0	0	100
Hardy-Weinberg Equilibrium	0	0	100
Population stratification	0	0	100
Multiple comparisons	0	0	100
Racial mix	0	0	100
Multiple publications	0	0	100
Study registration	0	0	100
Visual similarity	0	0	100
Visual similarity	0	0	100



References

- [1] AGO, Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Hypertension*. 2018.
- [2] Cook-Johnson S. *International Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2008; 112: 342-348.
- [3] MTHFR. *Genetics Home Reference*. 2018. <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/mthfr>
- [4] Genetic and Rare Diseases Information Center. *MTHFR gene*. <https://rarediseases.info.nih.gov/diseases/5362/mthfr>
- [5] Page PR, Moher D, Altman DG, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP, Pocock SJ, et al. *STREGA: Reporting of Genetic Association Studies*. *PLoS Med*. 2007; 4(8):e159.
- [6] Page PR, Moher D, Altman DG, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP, Pocock SJ, et al. *STARD: Reporting of Studies of Analyses of Diagnostic Accuracy*. *PLoS Med*. 2007; 4(10):e158.

15.6 Protocolos de búsqueda sistemática

HuGENet

Preeclampsia AND polymorphism: 1 new OTHER
Preeclampsia AND SNP: 6 new OTHER
Preeclampsia AND CNV: NA
Preeclampsia AND SNP: 6 new OTHER
Preeclampsia AND short tandem repeat: 9 (4 new) OTHER
Preeclampsia AND indel mutation: 2 OTHER
Preeclampsia AND microsatellite marker: 2 (1 new) OTHER
Preeclampsia AND microarray: 6 (2 new) OTHER
Preeclampsia AND epigenetic: 0 OTHER
Preeclampsia AND RNA: 31 OTHER
Preeclampsia AND genome-wide association: 4 OTHER

Total by 01/30/2018: 67 (with duplicates among searches), all were briefs or communications involving other disciplines of OB/GYN.

Virtual Health Library

"PREECLAMPSIA" or "PREECLAMPSIA ECLAMPSIA 1" or "PREECLAMPSIA ECLAMPSIA 1/" [Words] and "BIOMARCADOR" or "BIOMARCADORA" or "BIOMARCADORAS" or "BIOMARCADORES" [Words] and "GENETIC" or "GENETIC ASSOCIATION STUDIES" or "GENETIC ASSOCIATION STUDIES/" or "GENETIC ASSOCIATION STUDIES/MT" or "GENETIC ASSOCIATION STUDY" or "GENETIC ASSOCIATION STUDY/" or "GENETIC ASSOCIATION STUDY/MT" [Words]

ProQuest

(preeclampsia OR pre-eclampsia OR eclampsia) AND s
Revistas científicas AND Revistas profesionales AND Tesis doctorales/Tesinas AND Ponencias y actas

Artículo, artículo principal, Carta al editor, Comentario, Conferencia, Corrección/Retracción, Discurso/conferencia, disertación/tesis, Documento de referencia, editorial, ensayo, fondo/subvención/beca de investigación/premio, papeles de trabajo/edición preliminar, patente, ponencia, reseña/revisión.

English, Spanish, French, Portuguese.

Peer reviewed literature

N = 2,774 to 01/30/2018

Ovid/MEDLINE

Term	Pregnancy-induced HTN: Preeclampsia-Eclampsia HELLP	Studies of genetic biomarkers	Studies
Controlled vocabulary	exp Pre-Eclampsia/ exp Eclampsia/ exp hypertension, pregnancy-induced/ or exp eclampsia/ or exp hellp syndrome/ or exp pre-eclampsia/ [33,449]	exp single nucleotide polymorphism/ exp copy number variation/ exp short tandem repeat/ exp indel mutation/ exp microsatellite marker/ exp microRNA/ exp long untranslated RNA/ exp biological marker/ exp quantitative trait locus/ exp genome-wide association study/ exp dna methylation/ or exp epigenesis, genetic/ or exp epistasis, genetic/ or genetic variation/ or mutation/ or polymorphism, genetic/ or exp genomic structural variation/ or genomic structural variation/ or exp dna copy number variations/ or exp pharmacogenomic variants/ or exp	exp molecular epidemiology/ or exp genome-wide association study/ or exp mendelian randomization analysis/ or exp statistics as topic/ or exp "analysis of variance"/ or exp area under curve/ or exp biostatistics/ or exp cluster analysis/ or exp confidence intervals/ or exp data interpretation, statistical/ or exp matched-pair analysis/ or exp principal component analysis/ or exp regression analysis/ or exp "sensitivity and specificity"/ or exp statistics, nonparametric/ or exp survival analysis/ or exp epidemiologic studies/ or exp case-control studies/ or exp

		polymorphism, restriction fragment length/ or exp polymorphism, single nucleotide/ or exp polymorphism, single- stranded conformational/	retrospective studies/ or exp cohort studies/ or exp cross-sectional studies/ or exp pilot projects/ or exp sampling studies/ or exp epidemiologic research design/
--	--	---	--

Other vocabulary	eph adj3 gest*.tw [eph adj3 toxemia*.tw eclampsia* adj3 preeclampsia*.tw edema adj3 protein* adj3 hypertension* adj3 gest*.tw gest* adj3 edema.tw gest* adj3 hypertens*.tw pregnan* adj3 toxemi*.tw preeclampsia.tw eclampsia.tw	variant* adj1 unknown adj1 significance.tw. single adj1 nucleotide adj1 polymorphism*.tw. gene* adj3 polymorphism*.tw. SNP*.tw. GWA*.tw. genetic adj1 association.tw. gene adj3 stud*.tw. insertion adj1 deletion adj3 polymorphism*.tw. insertion adj1 deletion adj3 mutation*.tw.	cohort.tw. case adj1 control adj1 stud*.tw transversal adj1 stud*.tw epidemiolog* adj3 stud*.tw
# of articles (01/30)	103,552	1,856,494	5,994,130
# in Ovid	1:11	12:31	33:38
# ref			

4,511 papers by 01/30/2018

After duplicates removed (favoring has full abstract): 3,939