



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

Facultad de Ciencias Químicas

**TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO.**

TEMA:

**MARCADORES BIOQUÍMICOS INVOLUCRADOS EN LA PREDICCIÓN
DE PREECLAMPSIA Y SU RELACIÓN CON EL POLIMORFISMO
rs4680 DEL GEN CATECOL-O-METILTRANSFERASA EN
CIRCULACION FETAL.**

AUTORES:

MIGUEL EDUARDO PALMA CABELLO

MAYTE MADELAINE REYES AGUIRRE

TUTOR:

MS.c. GUSTAVO SAÚL. ESCOBAR VALDIVIESO, BLGO

GUAYAQUIL- ECUADOR

2018-2019



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE GRADUACIÓN

TÍTULO Y SUBTÍTULO:	MARCADORES BIOQUÍMICOS INVOLUCRADOS EN LA PREDICCIÓN DE PREECLAMPSIA Y SU RELACIÓN CON EL POLIMORFISMO rs4680 DEL GEN CATECOL-O-METILTRANSFERASA EN CIRCULACIÓN FETAL		
AUTOR(ES) (apellidos/nombres):	Palma Cabello Miguel Eduardo Reyes Aguirre Mayte Madelaine		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES) (apellidos/nombres):	Escobar Valdivieso Saúl Gustavo Rosado Ruiz Apodaca Ileana		
INSTITUCIÓN:	Universidad de Guayaquil		
UNIDAD/FACULTAD:	Facultad de Ciencias Químicas		
MAESTRÍA/ESPECIALIDAD:	Química y farmacia Tercer Nivel – Química/o Farmacéutica/o		
GRADO OBTENIDO:	Química Farmacéutica		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	2019	No. DE PÁGINAS:	71
ÁREAS TEMÁTICAS:	Descriptiva- No experimental		
PALABRAS CLAVES/KEYWORDS:	Marcadores bioquímicos, preeclampsia, homocisteína, polimorfismo, rs4680, COMT.		
RESUMEN/ABSTRACT (150-250 palabras):	Este fue un estudio de casos y controles. Para el efecto se utilizaron muestras sanguíneas de cordón umbilical (arteria y vena) criopreservadas de mujeres complicadas con PE severa (40 casos: arteria, n=20 y vena=20) y sus respectivos 40 controles (arteria, n=20 y vena, n=20). Se extrajo ADN y luego se amplificó el polimorfismo rs4680. Además, se midieron los niveles de varios marcadores bioquímicos vinculados a la preeclampsia en arteria y vena umbilical. El análisis se realizó utilizando el paquete estadístico epiinfo™ 7. Resultados: se encontraron niveles menores de factor de crecimiento placentario y mayores de proteína A asociada al embarazo y beta gonadotropina coriónica humana libre (en vena y arteria umbilical) en casos en comparación con los controles. Hubo una tendencia no significativa de niveles menores de factor de crecimiento placentario (pg/ml) en vena umbilical y mayores de proteína A asociada al embarazo y gonadotropina coriónica humana libre según las variantes génicas del polimorfismo rs4680.		
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: 0999109377 0980227529	E-mail: mayte.reyesa@ug.edu.ec miguel.palmac@ug.edu.ec	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:	Nombre: SEDE CIENCIAS QUÍMICAS		
	Teléfono: 04-229-3680		
	E-mail: fcquimic@ug.edu.ec		



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 18 de marzo de 2019

Sra.
Q.F. Marianita Rendón Mariscal, M.Sc.
Vice-Decana de la Facultad de Ciencias Químicas
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad.-

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación **MARCADORES BIOQUÍMICOS INVOLUCRADOS EN LA PREDICCIÓN DE PREECLAMPSIA Y SU RELACIÓN CON EL POLIMORFISMO rs4680 DEL GEN CATECOL-O-METILTRANSFERASA EN CIRCULACION FETAL** de los estudiantes **MIGUEL EDUARDO PALMA CABELLO** y **MAYTE MADELAINE REYES AGUIRRE**, indicando han cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de titulación con la respectiva calificación.

Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, **CERTIFICO**, para los fines pertinentes, que los estudiantes están aptos para continuar con el proceso de revisión final.

Atentamente,



TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN
c.i. 1204095813



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 25 de febrero de 2019

Sr. /Sra.

Marianita de Jesús Rendón Mariscal MSc.
DIRECTOR (A) DE LA CARRERA/ESCUELA
FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la REVISIÓN FINAL del Trabajo de Titulación "**Marcadores bioquímicos involucrados en la predicción de preeclampsia y su relación con el polimorfismo rs4680 del gen catecol-o-metiltransferasa en circulación fetal**" de los estudiantes **Miguel Eduardo Palma Cabello, Mayte Madelaine Reyes Aguirre**. Las gestiones realizadas me permiten indicar que el trabajo fue revisado considerando todos los parámetros establecidos en las normativas vigentes, en el cumplimiento de los siguientes aspectos:

Cumplimiento de requisitos de forma:

- El título tiene 21 palabras.
- La memoria escrita se ajusta a la estructura establecida.
- El documento se ajusta a las normas de escritura científica seleccionadas por la Facultad.
- La investigación es pertinente con la línea y sublíneas de investigación de la carrera.
- El 17.3 % de los soportes teóricos son de máximo 5 años.
- La propuesta presentada es pertinente.

Cumplimiento con el Reglamento de Régimen Académico:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- Los estudiantes demuestran conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se indica que fue revisado, el certificado de porcentaje de similitud, la valoración del tutor, así como de las páginas preliminares solicitadas, lo cual indica que el trabajo de investigación cumple con los requisitos exigidos.

Una vez concluida esta revisión, considero que los estudiantes **Miguel Eduardo Palma Cabello, Mayte Madelaine Reyes Aguirre** están aptos para continuar el proceso de titulación. Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,

Ileana Rosado Ruiz-Apodaca

DOCENTE TUTOR REVISOR

C.I. 0959504481



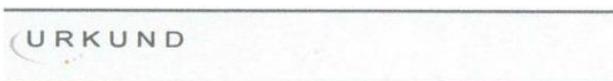
FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

Habiendo sido nombrado MS.c. Gustavo Saúl Escobar Valdivieso Blgo., tutor del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por Palma Cabello Miguel Eduardo C.C 0930389028 y Reyes Aguirre Mayte Madelaine C.C 0922968599, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Químico Farmacéutico.

Se informa que el trabajo de titulación: "Marcadores Bioquímicos involucrados en la predicción de preeclampsia y su relación con el polimorfismo rs4680 del gen Catecol-O-Metiltransferasa en circulación fetal" ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa antiplagio (URKUND) quedando el _3_% de coincidencia.



Urkund Analysis Result

Analysed Document: Tesis AFinal 0.2.docx (D47094676)
Submitted: 1/22/2019 1:19:00 AM
Submitted By: mayte.reyesa@ug.edu.ec
Significance: 3 %

Sources included in the report:

3 tesis PNPLA3.docx (D40881828)

Instances where selected sources appear:

6

MS.c Gustavo S Escobar Valdivieso Blgo.
c.i. 1204095833



Urkund Analysis Result

Analysed Document: Tesis AFinal 0.2.docx (D47094676)
Submitted: 1/22/2019 1:19:00 AM
Submitted By: mayte.reyesa@ug.edu.ec
Significance: 3 %

Sources included in the report:

3 tesis PNPLA3.docx (D40881828)

Instances where selected sources appear:

6



MUTACIONES Tipo de celula Germinal Somatica Magnitud

Grandes mutaciones o anomalias cromosomicas. mutaciones "medianas" en secuencias repetidas. Mutaciones pequeñas o puntuales.

Mecanismos mutaciones endogenas. Mutaciones exogenas. MUTACIONES Tipo de celula Germinal Somatica Magnitud

Grandes mutaciones o anomalias cromosomicas. mutaciones "medianas" en secuencias repetidas. Mutaciones pequeñas o puntuales.

Mecanismos mutaciones endogenas. Mutaciones exogenas. UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL Facultad de Ciencias Químicas TRABAJO DE TITULACION PRESENTADO COMO REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO. TEMA: MARCADORES BIOQUÍMICOS INVOLUCRADOS EN LA PREDICCIÓN DE PREECLAMPSIA Y SU RELACIÓN CON EL POLIMORFISMO rs4680 DEL GEN CATECOL-O-METILTRANSFERASA EN CIRCULACION FETAL. AUTORES: MIGUEL EDUARDO PALMA CABELLO MAYTE MADELAINE REYES AGUIRRE TUTOR: MS.c. Gustavo SAÚL. Escobar Valdivieso, BLGO GUAYAQUIL- ECUADOR 2018-2019

Dedicatoria Dedico esta tesis a Dios y a mi madre Mónica Cabello por estar conmigo siempre, apoyándome por sus consejos y por siempre estar pendiente de mí sin nada a cambio por su motivación constante y sobre todo por el amor sincero que me da; a mi padre Cesar Palma por permanecer conmigo en todo momento brindarme esas energías y ese ánimo de salir adelante, por todos los ejemplos de vida que me ha brindado y todos los buenos hábitos infundidos en mí. También dedico este trabajo a mis hermanos Daniel y Cesar por siempre estar pendientes de mí y respaldarme siempre en todas mis decisiones; a mi familia por su incondicional apoyo en todo momento. A mis amigos por estar siempre en los buenos y malos momentos y a mis docentes de la Universidad por haberme transferido sus conocimientos. A Mayte Reyes por ser esa persona tan especial en mi vida por sus consejos y sus ganas de quererme ver triunfar A mi tutor y amigo el Biólogo Saúl Escobar por darme siempre los mejores consejos para mi vida profesional y personal Esta meta lograda no es mía solamente es de todos ustedes de todos aquellos que colocaron ese granito de arena en el momento



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



**LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL
USO NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS**

Nosotros, **PALMA CABELLO MIGUEL EDUARDO** con C.I. No. 0930389028 y **REYES AGUIRRE MAYTE MADELAINE** con C.I. No. 0922968599 certificamos que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es **“Marcadores Bioquímicos involucrados en la predicción de preeclampsia y su relación con el polimorfismo rs4680 del gen Catecol-o-metiltransferasa en circulación fetal”** son de mi absoluta propiedad y responsabilidad Y SEGÚN EL Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN*, autorizo el uso de una licencia gratuita intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la presente obra con fines no académicos, en favor de la Universidad de Guayaquil, para que haga uso del mismo, como fuera pertinente.

Miguel Eduardo Palma Cabello
C.I. No. 0930389028

Mayte Madelaine Reyes Aguirre
C.I. No 0922968599

*CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n. 899 - Dic./2016) Artículo 114.- De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos.- En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores, e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos, u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



APROBACION DEL TUTOR

En calidad de tutor/a del trabajo de titulación, certifico: Que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de investigación, cuyo título es "MARCADORES BIOQUÍMICOS INVOLUCRADOS EN LA PREDICCIÓN DE PREECLAMPSIA Y SU RELACIÓN CON EL POLIMORFISMO rs4680 DEL GEN CATECOL-O-METILTRANSFERASA EN CIRCULACIÓN FETAL", presentado por Miguel Eduardo Palma Cabello con cedula de ciudadanía N° 0930389028 y Mayte Madelaine Reyes Aguirre con cedula ciudadanía N°0922968599

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Antiplagio del programa URKUND. Lo certifico

Bigo. Saúl Escobar Valdivieso, MSc.

C.I: 1101027813.....



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



CERTIFICACIÓN DE TUTOR REVISOR

YO, **Dra. ILEANA ROSADO RUIZ-APODACA** habiendo sido nombrada tutor revisor del trabajo de titulación, modalidad: Investigación, denominado **“MARCADORES BIOQUÍMICOS INVOLUCRADOS EN LA PREDICCIÓN DE PREECLAMPSIA Y SU RELACIÓN CON EL POLIMORFISMO rs4680 DEL GEN CATECOL-O-METILTRANSFERASA EN CIRCULACIÓN FETAL”**, previo a la obtención del título de Químico y Farmacéutico, **CERTIFICO**, que he revisado en su totalidad el documento en mención y ha sido **APROBADO** por la suscrita, a fin de ser defendido frente al **TIBUNAL DE SUSTENTACIÓN** de la Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Guayaquil.

El trabajo fue elaborado por la Srta **Mayte Madelaine Reyes Aguirre** con C.I. N°, **0922968599** y **Miguel Eduardo Palma Cabello** con C.I. N°**0930389028**

Dra. ILEANA ROSADO RUIZ-APODACA

C.I.: 0959504181



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



CERTIFICADO DEL TRIBUNAL

El Tribunal de Sustentación del Trabajo de Titulación de la Srta. Mayte Madelaine Reyes Aguirre y el Sr. Miguel Eduardo Palma Cabello, después de ser examinado en su presentación, memoria científica y defensa oral da por aprobado el Trabajo de Titulación, denominado:

“MARCADORES BIOQUÍMICOS INVOLUCRADOS EN LA PREDICCIÓN DE PREECLAMPSIA Y SU RELACIÓN CON EL POLIMORFISMO rs4680 DEL GEN CATECOL-O-METILTRANSFERASA EN CIRCULACIÓN FETAL”

Lcda. Ileana Rosado Ruiz-Apodaca
PhD
(Presidente) MIEMBRO DEL
TRIBUNAL

QF. Fernanda Kolenyak Dos
Santos PhD.
DOCENTE-MIEMBRO DEL
TRIBUNAL

Dr. Ing. QF. Luis Cazar Ubilla Mgtr.
DOCENTE-MIEMBRO DEL
TRIBUNAL

Ab. Francisco Palomeque
Romero
SECRETARIO ENCARGADO



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Fecha

Guayaquil, 19 de Marzo 2019

CARTA DE AUTORIA DEL TRABAJO

"MARCADORES BIOQUÍMICOS INVOLUCRADOS EN LA PREDICCIÓN DE PREECLAMPSIA Y SU RELACIÓN CON EL POLIMORFISMO rs4680 DEL GEN CATECOL-O-METILTRANSFERASA EN CIRCULACIÓN FETAL",

Nosotros, **Miguel Eduardo Palma Cabello** y **Mayte Madelaine Reyes Aguirre**, con cédula de identidad, **0930389028** y **0922968599** autoras de este trabajo, declaramos ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este TRABAJO DE TITULACIÓN, nos corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil.

Declaramos también es de nuestra autoría, todo el material escrito, salvo el que está debidamente referenciado en el texto. Además ratifico que este trabajo no ha sido parcial, ni totalmente presentado para la obtención de un título, ni en una Universidad nacional, ni extranjera.

Miguel Eduardo Palma Cabello
C.I.: 0930389028

Mayte Madelaine Reyes Aguirre
C.I.: 0922968599

Dedicatoria

Dedico esta tesis a Dios y a mi madre Mónica Cabello por estar conmigo siempre, apoyándome por sus consejos y por siempre estar pendiente de mí sin nada a cambio por su motivación constante y sobre todo por el amor sincero que me da; a mi padre Cesar Palma por permanecer conmigo en todo momento brindarme esas energías y ese ánimo de salir adelante, por todos los ejemplos de vida que me ha brindado y todos los buenos hábitos infundidos en mí.

También dedico este trabajo a mis hermanos Daniel y Cesar por siempre estar pendientes de mí y respaldarme siempre en todas mis decisiones; a mi familia por su incondicional apoyo en todo momento. A mis amigos por estar siempre en los buenos y malos momentos y a mis docentes de la Universidad por haberme transferido sus conocimientos.

A Mayte Reyes por ser esa persona tan especial en mi vida por sus consejos y sus ganas de quererme ver triunfar

A mi tutor y amigo el Biólogo Saúl Escobar por darme siempre los mejores consejos para mi vida profesional y personal

Esta meta lograda no es mía solamente es de todos ustedes de todos aquellos que colocaron ese granito de arena en el momento preciso para llenarme de fuerzas y esfuerzo para poder salir adelante.

Miguel Palma Cabello.

Dedicatoria

El presente trabajo va dedicado con mucho amor especialmente a Dios quien es mi guía espiritual en cada momento y etapa de mi vida.

A mi Bisabuelo Víctor Plúas que sé que si estuvieras, fueras el primero en abrazarme, hoy no estas físicamente a mi lado pero vives en mi corazón y así será eternamente.

A mi familia quienes son las personas que siempre estuvieron y están apoyándome, dándome ánimos y fuerzas para lograr cada objetivo que me proponga, pero sobre todo a las 3 madres que me dio la vida Maribel, Teresa y Guillermina por todo el amor, comprensión y los valores inculcados, porque fueron mi fortaleza para levantarme cuando todo se veía oscuro. Ustedes son mi ejemplo a seguir.

A mis hermanos, quienes son mi motivación y lo mejor de mi vida. A mis amigos por ser parte influyente en lo que fue mi carrera universitaria, porque siempre estuvieron presentes en los buenos y malos momentos de mi vida.

Y sin dejar atrás a mi tutor y profesores quienes me impartieron cada uno de sus conocimientos y fueron parte importante en mi formación.

Este logro es por y para todas las personas que aportaron ese “granito de arena” que me motivo a seguir adelante y nunca rendirme. ¡Gracias Totales!

Mayte Madelaine Reyes Aguirre.

AGRADECIMIENTO

Quiero aprovechar este momento para agradecerle a Dios por estar siempre conmigo, por nunca abandonarme ni dejarme solo por darme una familia, novia, amigos y por permitirme culminar un capítulo más de mi vida, ayudándome a cumplir esta meta tan anhelada. Agradezco a mis padres Mónica Cabello y Cesar Palma por siempre estar ahí en las buenas y en las malas, en los momentos que pensé que no podía más, dándome esa fuerza para seguir, teniendo las palabras de ánimo que necesitaba cuando me sentía derrumbado, por ser un ejemplo de vida inculcándome buenos valores y costumbres; agradezco también a mis hermanos Daniel y Cesar que siempre han estado pendientes de mí, por llenar mi vida con todas sus locuras, alegrías y enseñanzas ellos son ese impulso para seguir adelante. Quiero agradecer también a toda mi familia que no la describo porque no terminaría la cual fue y es un punto fundamental para mi crecimiento en donde cada uno de ellos a su manera han estado tan pendiente de mí como mis padres y hermanos. Agradezco a mi gran amigo el Biólogo Saúl Escobar por sus consejos , enseñanza su amistad y la confianza depositada en mí ;también por la paciencia infinita que nos ha dado al momento de realizar esta tesis, a mi familia del instituto: Cecibel, Rita, Mafer, Fernando y al doctor Peter ya que han tenido la paciencia y el deseo de enseñarme y recibirme como un integrante más; y prepararme de la mejor manera en el inicio de mi ámbito laboral y personal con todos sus consejos anécdotas siendo hermosos momentos vividos en el IBM.

Agradezco a mi novia Mayte Reyes por estar siempre conmigo, por ser quien me motiva, por ayudarme a crecer y mejorar como persona y como profesional, por esa paciencia infinita que me ha tenido, por sus consejos deseando lo mejor para mí , agradezco también a mis amigos entre ellos Jesus, Kevin, Jennifer y Meiby con los que he compartido momentos incomparables con sonrisas, discusiones, amistades únicas y sinceras y sobre todo mucha felicidad haciendo de este tiempo vivido en la universidad inigualable; y por ultimo también agradezco a todas las personas que de una u otra manera han influido en mi para, poder estar donde estoy.

AGRADECIMIENTO

Agradezco infinitamente a Dios quien me ha brindado salud, sabiduría y fuerzas, que me permitieron mantenerme en pie y no desmayar, y así culminar mi carrera y esta maravillosa experiencia en esta hermosa facultad. Agradezco a mi familia pero en especial a mi madre, mis abuelos, a mi tío Joe Aguilera, Cristian Reyes, Ingrid y Evelyn Aguilera por el apoyo incondicional, la paciencia y dedicación que tuvieron y que ahora se ve reflejado, todos ustedes son mi ejemplo a seguir.

Agradezco al Blgo. Saúl Escobar por darme el honor de ser su alumna y tutoriada en mi tesis quien fue parte importante para llevar a cabo la realización de la misma. Gracias por cada sugerencia y corrección. A todos mis profesores por los conocimientos y valores impartidos a lo largo de la carrera universitaria.

Le agradezco a mi compañero de tesis, mejor amigo y enamorado, Miguel Palma, quien fue esa mano amiga, compañero y consejero a lo largo de toda la carrera. A mis hermanos, Lilibeth y Joe José, y a mis primos, quienes me animaron con sus ocurrencias y consejos para que siempre para que me mantenga firme y siga adelante. Agradezco a todos mis amigos pero sobre todo a mis amigos de la universidad, personas que se convirtieron en una familia, su cariño y ocurrencias hicieron que todo fuese menos duro y complicado. Y resaltando ante todo a mis mejores amigos Jennifer Castro, Kevin Muñoz, Angélica Paredes, Alan Chuchuca y Michael Albán.

Cada de una de estas personas fueron mi motor y quedo totalmente satisfecha y agradecida con la experiencia de mi etapa universitaria donde reí, lloré, pero sobre todo aprendí a ser perseverante, forjé mi carácter y conocí personas que jamás olvidaré.

Mayte Madelaine Reyes Aguirre.

Índice

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	5
1. 1 Planteamiento del problema.	5
1.1.1 Problema.	5
1.2 Hipótesis.....	6
1.3 Objetivo general.....	6
1.4 Objetivos específicos.....	6
1.5 Justificación.....	7
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	8
2.1 Antecedentes	8
2.2 Preeclampsia	10
2.2.1 Etiología.....	10
2.2.2 Fisiopatología	11
2.3 Tipos de preeclampsia	12
2.3.1 Preeclampsia leve	12
2.3.2 Preeclampsia severa.....	12
2.4 Factores de riesgo	13
2.4.1 Factores de riesgos maternos preconceptionales.....	13
2.5 Epidemiología.....	15
2.6 Síntomas	16
2.7 Tratamiento.....	17
2.8 Prevención	19
2.9 Genoma.....	20
2.10 Gen.....	20
2.11 Mutación.....	20
2.11.1 Clasificación de las mutaciones.....	21
2.11.2 Tipo de célula que sufre mutación.....	22
2.11.3 Magnitud de la mutación.	23
2.11.4 Cambios en la secuencia del ADN	25
2.11.5 Mutaciones silenciosas	27
2.11.6 Mutaciones no silenciosas	27
2.11.7 Causas y mecanismos básicos de las mutaciones	29

2.12 Polimorfismo	30
2.13 Catecol-o-metiltransferasa (COMT).....	31
2.13.1 COMT y preeclampsia.....	32
2.13.2 Gen COMT y el polimorfismo rs4680.....	33
2.13.3 Polimorfismos variantes del COMT	34
2.13.4 Otros polimorfismos del gen COMT	34
2.14 Genética de la preeclampsia.....	35
2.15 Marcadores bioquímicos asociados a preeclampsia.	36
2.15.1 Marcadores bioquímicos predictores de preeclampsia	37
2.16 Técnicas moleculares	39
2.16.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).	39
2.16.2 PCR tiempo real (Q-PCR): fundamento.	40
2.16.3 Técnica PCR tiempo real.	41
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS	44
3.1 Población/ Muestra/ Muestreo.	44
3.2 Tipo de estudio/ Diseño de investigación.	44
3.3 Métodos y técnicas de recopilación de datos.....	44
3.4 Determinación de los marcadores bioquímicos.	45
3.5 Extracción y amplificación del material genético.	45
3.6 Análisis estadístico.	46
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	47
4.1 Resultados obtenidos.....	47
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	54
5.1 Conclusiones.	54
1.2 Recomendaciones.....	55
ANEXOS	56

Índice de tabla

Tabla 1: Datos sociodemográficos.....	49
Tabla 2: Niveles de marcadores bioquímicos PIGF, PAPP-A, free β -HCG y homocisteína en cordón umbilical (vena y arteria) casos / controles.....	50
Tabla 3. Frecuencia de las variantes de los polimorfismos del gen COMT (vena) en caso y controles.	51
Tabla 5. Frecuencia de las variantes del polimorfismo del COMT (arteria) en caso y controles.	51
Tabla 6. Niveles de PIGF, PAPP-A, β -HCG libre y HCY de acuerdo a las variantes del polimorfismo COMT en vena y arteria umbilical.	52

Índice de figuras

Figura 1 Clasificación de mutación.	23
Figura 2 Cambios en la secuencia de ADN.....	26
Figura 3 Sustitución de transición.....	27
Figura 4 Sustitución de transversión.	27
Figura 5 Etapas de PCR.	44
Figura 6 Muestras de ADN.	64
Figura 7 Materiales de PCR.....	64
Figura 8 Proceso de extracción de ADN.....	65
Figura 9 proceso de PCR.	65
Figura 10 Técnica insertada en el equipo..	66
Figura 11 Carrusel de muestras (LightCycler).....	66
Figura 12 Resultados del equipo.....	67

Índice de cuadros

Cuadro 1. Estrategias de prevención de preeclampsia.	20
Cuadro 2. Clases y tipos de mutaciones, y su grado de incidencia.....	25
Cuadro 3. Marcadores bioquímicos predictores de preeclampsia.....	39

RESUMEN

Antecedentes: Investigaciones han determinado que hay varios parámetros bioquímicos relacionados con la preeclampsia que permitirían encontrar antecedentes para la sospecha del inicio de la enfermedad. Pese a esto no se rechaza la idea de que el genoma juega un papel importante en el desarrollo de la patología. Objetivo: Establecer la relación entre los marcadores bioquímicos involucrados en la predicción de la preeclampsia severa con el polimorfismo rs4680 del gen catecol-O-Metil transferasa en circulación fetal. Metodología: este fue un estudio de casos y controles. Para el efecto se utilizaron muestras sanguíneas de cordón umbilical (arteria y vena) criopreservadas de mujeres complicadas con PE severa (40 casos: arteria, n=20 y vena=20) y sus respectivos 40 controles (arteria, n=20 y vena, n=20). Se extrajo ADN y luego se amplificó el polimorfismo rs4680. Además, se midieron los niveles de varios marcadores bioquímicos vinculados a la preeclampsia en arteria y vena umbilical. El análisis se realizó utilizando el paquete estadístico epiinfo™ 7. Resultados: se encontraron niveles menores de factor de crecimiento placentario y mayores de proteína A asociada al embarazo y beta gonadotropina coriónica humana libre (en vena y arteria umbilical) en casos en comparación con los controles. Hubo una tendencia no significativa de niveles menores de factor de crecimiento placentario (pg/ml) en vena umbilical y mayores de proteína A asociada al embarazo y gonadotropina coriónica humana libre según las variantes génicas del polimorfismo rs4680. Conclusión: los niveles de marcadores bioquímicos mostraron diferencias en relación con las variantes génicas del polimorfismo rs4680, aunque estas fueron no significativas posiblemente debido al tamaño muestral. Se requiere de más investigación en este particular.

PALABRAS CLAVE: marcadores bioquímicos, preeclampsia, homocisteína, polimorfismo, rs4680.

ABSTRACT

Background: Investigations have determined that there are several biochemical parameters related to preeclampsia (PE) that would allow raising antecedents for the suspicion of the onset of the disease. Despite this, the idea that the genome plays an important role on the rise or decrease of these biochemical indicators is not rejected. **Objective:** To establish the relationship between the biochemical markers involved in the prediction of severe preeclampsia with the rs4680 polymorphism of the catechol-O-methyl transferase (COMT) gene in the fetal circulation. **Methodology:** this was a case-control study. For this purpose, blood samples of cryopreserved umbilical cord (artery and vein) of women complicated with severe PE were used (40 cases: artery, n = 20 and vein = 20) and their respective 40 controls (artery, n = 20 and vein, n = 20). DNA was extracted and then the rs4680 polymorphism was amplified. In addition, the levels of several biochemical markers linked to PE in the umbilical artery and vein were measured. The analysis was carried out using the epiinfo™ 7 statistical package. **Results:** Lower levels of Placental Growth Factor and higher levels of protein A associated with pregnancy and free β -human chorionic gonadotropin (in vein and umbilical artery) were found in cases compared to controls. There was a non-significant trend in the umbilical vein of lower levels of Placental Growth Factor (pg / mL) and higher protein A associated with pregnancy and free β -human chorionic gonadotropin levels according to the genetic variants of the rs4680 polymorphism. **Conclusion:** The levels of biochemical markers showed differences in relation to the gene variants of the rs4680 polymorphism, although these were not significant, possibly due to the sample size. More research is required in this regard.

KEYWORDS: biochemical markers, preeclampsia, homocysteine, polymorphism, rs4680.

INTRODUCCIÓN

Durante el embarazo se presentan ciertas complicaciones que ponen en peligro la vida del feto y de la madre, como por ejemplo el aborto espontáneo, diabetes gestacional, poco líquido amniótico (oligohidramnios), enfermedades cardiacas, hipertensión arterial y problemas renales; entre estas enfermedades también se manifiesta la preeclampsia (PE).

La PE se define como la presencia de hipertensión arterial elevada, con dos lecturas $\geq 140/90$ (presión arterial sistólica ≥ 140 mmHg o diastólica ≥ 90 mmHg), y proteinuria superior a 0,3 g/día después de la vigésima semana de embarazo en pacientes anteriormente normotensas; afecta de 3-5 % de todas las gestantes, con una incidencia de 3-7 % en nulíparas y 1-3 % multíparas, por lo que es una de las complicaciones más frecuentes durante el embarazo (Jimenez & Martinez, 2013).

Entre los factores de riesgo asociados a su aparición se encuentran las mujeres cuyas madres tuvieron preeclampsia, y las primigestas (con el 85% de los casos), sin embargo esta incidencia disminuye considerablemente en los posteriores embarazos (Willians & Morgan, 2012).

La PE es un trastorno genético complejo, que se produce como resultado de polimorfismos en diferentes *loci*, que tienen individualmente efectos pequeños que contribuyen colectivamente a la susceptibilidad de un individuo a la enfermedad, aunque diferentes variantes pueden resultar ser asociados con los subconjuntos de la enfermedad (Willians, et al., 2012).

El gen catechol-O-methyltransferase (COMT) está localizado en el *locus* 22q11.2, que codifica una enzima clave en la degradación de catecolaminas involucrada en la homeostasis metabólica y vascular, incluyendo dopamina, epinefrina, norepinefrina y estrógenos; consiste en dos promotores y seis exones (Jiménez, Martínez, & Vargas, 2013). El polimorfismo rs4680 es causado por el cambio de G por A; Este polimorfismo da como resultado una sustitución del aminoácido valina por metionina en el codón 108 y 158 en las isoformas solubles y unidas a la membrana de COMT, respectivamente (Roten, Johnson, & Moses, 2011).

Los marcadores bioquímicos de preeclampsia poseen un amplio rango de valor predictivo entre el 10 o 80 %, las combinaciones entre ellas ha mejorado notablemente la detección, en especial de preeclampsia temprana sin embargo la OMS no ha definido el mejor marcador ni las estrategias de *screening* que permitan identificar mujeres con alto riesgo de desarrollo de preeclampsia (Noroña, 2014).

Reyna, (2010) “Muchos estudios han considerado más de 200 posibles marcadores con poco éxito. A pesar de que se han realizado esfuerzos para detectar las manifestaciones tempranas de la enfermedad, de los cambios fisiopatológicos tempranos y sus marcadores bioquímicos”. Entre los diferentes marcadores que han sido propuestos como predictores de la preeclampsia se encuentran: factor de crecimiento placentario, proteína A asociada al embarazo, homocisteína,.

CAPÍTULO I. EL PROBLEMA

1. 1 Planteamiento del problema.

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) diariamente mueren 830 mujeres aproximadamente por causas relacionadas al embarazo y el parto. Un 99 % de la mortalidad materna corresponde a los países en vías de desarrollo. Las mujeres de escasos recursos económicos son las más vulnerables a este gran problema de mortalidad materna. En comparación con otras mujeres, las jóvenes adolescentes corren mayor riesgo de complicaciones y muerte a consecuencia del embarazo (OMS, 2015).

Una de las complicaciones más graves en el embarazo es la preeclampsia (PE) que es considerada como una enfermedad multisistémica y multifactorial que se presenta en la etapa del embarazo y que está relacionada con el síndrome de hipertensión arterial, además de ser una de las causas principales de muerte materna y fetal. Investigaciones expresan que factores genéticos, sistémicos y ambientales juegan un papel importante en el desarrollo de esta condición (Wang, Wu & Qiu, 2013).

Varias investigaciones han propuesto ciertos parámetros bioquímicos que están involucrados con la PE y que permitirían establecer precedentes para la sospecha del comienzo de la enfermedad.

1.1.1 Problema.

¿Existe una relación entre los marcadores bioquímicos y el polimorfismo rs4680 del gen catecol -O- metil transferasa (COMT) en la predicción de la preeclampsia severa?

1.2 Hipótesis

La relación entre los marcadores bioquímicos y el polimorfismo rs4680 del gen catecol-O-Metil transferasa son significativamente predictores en el desarrollo de la preeclampsia severa.

1.3 Objetivo general

Establecer la relación entre los marcadores bioquímicos involucrados en la predicción de la preeclampsia severa y el polimorfismo rs4680 del gen catecol-O-Metil transferasa (COMT) en circulación fetal.

1.4 Objetivos específicos

1. Determinar la presencia del polimorfismo rs4680 del gen catecol-O-Metil transferasa como predictor de la preeclampsia severa.
2. Analizar la concentración de los marcadores bioquímicos en muestras de vena y arteria de mujeres preeclámpticas y pacientes sanas.
3. Relacionar las concentraciones de los marcadores bioquímicos y el polimorfismo rs4680 del gen COMT.

1.5 Justificación

La preeclampsia es una condición que ocurre solamente durante el embarazo. Algunos síntomas pueden incluir la hipertensión arterial y nivel elevado de proteína en la orina que ocurre después de la semana 20 de gestación; la preeclampsia es a menudo preludiada por la hipertensión gestacional, mientras que la alta presión arterial durante el embarazo no indica necesariamente la presencia de esta enfermedad, en donde puede ser una señal de otro problema (American pregnancy, 2015).

Aproximadamente, 800 mujeres mueren al día a nivel mundial debido al embarazo o a complicaciones relacionadas con el parto. El 99 % de estas muertes ocurre en países en vías de desarrollo (Conde, Belizan, & Lammers, 2014).

Con el presente estudio se pretende dar a conocer la relación que mantienen los niveles de concentración de los marcadores bioquímicos y el factor genético (gen COMT- rs4680) en el desarrollo de la patología, a su vez de qué manera están vinculados y poder ser una herramienta de diagnóstico preventivo para el desarrollo de la preeclampsia.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

En un estudio realizado en Noruega dio a conocer sus registros básicos de 438-597 unidades madre-hijo y 286-945 unidades padre-hijo, entre 1967 y 2003 se encontró: 1) que las hijas de mujeres que habían tenido preeclampsia durante el embarazo tenían un riesgo mayor de esta patología; 2) que los hombres nacidos de un embarazo complicado con preeclampsia tuvieron un moderado aumento de riesgo de inducirlo en el embarazo; 3) que las hermanas de hombres o mujeres afectados y que nacieron de embarazos no complicados por preeclampsia, tuvieron también un incremento en el riesgo; y, 4) que los hombres y mujeres nacidos de embarazos complicados con preeclampsia tuvieron mayor probabilidad de inducir preeclampsia en sus propios embarazos (o de sus parejas) (Sanchez, 2006).

Mostello, (2002) encontró que el antecedente de un embarazo con preeclampsia confería mayor riesgo de esta patología en el segundo embarazo y que este riesgo era inversamente proporcional a la edad gestacional del primer embarazo: OR ajustado 15,0; (IC 95 % 6,3 a 35,4) si el primer embarazo alcanzó solo 20 a 33 semanas, OR ajustado 10,2 (IC 95 % 6,2 a 17,0) si fue de 33 a 36 semanas y OR ajustado 7,9 (IC 95 % 6,3 a 10,0) si fue de 37 a 45 semanas (Sanchez, 2006).

En otro estudio realizado en Finlandia, se encontró una recurrencia de preeclampsia del 15 % en gestantes que la presentaron en su primer embarazo. Se pudo evidenciar también que si no se desarrollaba preeclampsia recurrente, no existían problemas con el peso fetal, distrés fetal o prematuridad; no obstante, la tasa de cesáreas fue mayor (Sanchez, 2006).

El gen COMT ha demostrado interactuar con metileno tetrahidrofolato reductasa (MTHFR), que modula la disponibilidad de S-adenosilmetionina (SAM), un cofactor COMT. Las variaciones en MTHFR se han asociado con preeclampsia. Al explicar la variación alélica en ambos genes, se ha aclarado el papel de la COMT. El alelo de la variación está vinculada a la actividad enzimática y cuatro únicos nucleótidos polimorfismos (SNP) (rs6269, rs4633, rs4680, y rs4818) forma haplotipos que caracterizan la actividad del gen. Se probó la asociación entre los haplotipos COMT y el polimorfismo MTHFR 677 C → T y el riesgo de preeclampsia en 1103 díadas materno-fetales. Un estudio realizado en Chile demostró que el haplotipo materno ACCG COMT se asoció con menor riesgo de preeclampsia ($P = 0,004$), y este riesgo aumentó linealmente desde haplotipos de actividad baja a alta ($P = 0,003$). En muestras fetales, se halló que el haplotipo ATCA COMT fetal y el alelo T menor MTHFR fetal interaccionan para incrementar el riesgo de preeclampsia ($p = 0,022$). Se encontró un número mayor de esperados de pacientes con preeclampsia con los alelos de riesgo fetal solo ($P = 0,052$) y los alelos de riesgo fetal en combinación con un alelo de equilibrio materno ($P < 0,001$). Esta distribución no aleatoria no se observó en los controles ($P = 0,341$ y $P = 0,219$, respectivamente). Estos hallazgos demuestran un papel tanto materno y fetal COMT en preeclampsia y resaltar la importancia de incluir la variación alélica en MTHFR (Romero, Gómez, Kusanovic, & Eaves, 2011).

En el estudio de casos y controles que incluyó a 187 pacientes con preeclampsia (casos) y 189 sujetos normales (controles), el genotipo AA y las variantes de frecuencias alélicas Met de Val158Met en el COMT fueron significativamente mayores en pacientes con preeclampsia que aquellos en el grupo de control (ambos $p < 0,05$). El cociente de probabilidades para el riesgo de preeclampsia era de 2.395 [95% intervalo de confianza (IC): 1.061-5.408] en mujeres homocigotas para el alelo variante COMT ($\chi^2 = 4.649$, $p = 0.031$). Además, mostró que las mujeres obesas homocigotas para la variante del alelo COMT (Met / Met) tenían niveles de presión arterial diastólica más altos durante el embarazo que las homocigotas de tipo salvaje (Val / Val) ($p = 0.034$) (Liang, Fan, Liu, & Zhang, 2012).

2.2 Preeclampsia

La preeclampsia es una enfermedad multisistémica y multifactorial, caracterizada por la aparición de hipertensión y proteinuria por encima de las 20 semanas de gestación. Se estima que afecta entre un 2-7 % de los embarazos, y a pesar de ser una de las principales causas de mortalidad y morbilidad materna y neonatal, su etiología y patogénesis aún no se conocen con exactitud (Azpitarte, 2013).

2.2.1 Etiología

Según Dulay, (2012) la etiología es desconocida; sin embargo, los factores de riesgo son:

- Nuliparidad
- Hipertensión crónica preexistente
- Trastornos vasculares (p. ej., trastornos renales, vasculopatía diabética)
- Diabetes preexistente o gestacional
- Edad materna avanzada (> 35) o muy joven (p. ej., < 17)
- Antecedentes familiares de preeclampsia
- Preeclampsia o malos resultados en embarazos previos
- Embarazo multifetal
- Obesidad
- Trastornos trombóticos

2.2.2 Fisiopatología

La fisiopatología de la preeclampsia eventualmente compromete factores maternos como factores feto/placentarios. Las alteraciones precoces que se producen en el desarrollo de los vasos placentarios dan lugar a una hipoperfusión relativa de ésta, seguida de hipoxia e isquemia, que produce liberación de factores antiangiogénicos hacia la circulación materna, provocando una disfunción endotelial sistémica, que causa la hipertensión y otras manifestaciones clínicas propias de la enfermedad (Lagos, Arriagada, & Iglesias, 2013).

Otro de los posibles mecanismos que se ha propuesto en la fisiopatología de la preeclampsia son los factores inmunológicos, la hipótesis plantea que la interacción entre las células del trofoblasto y las *natural killers* (NK) controlarían la implantación placentaria. La alteración ocurriría cuando las células del trofoblasto expresan una inusual combinación de antígenos de histocompatibilidad, clase I: HLA-C, HLA-E y HLA-G, mientras que las NK expresan una variedad de receptores: CD94, KIR y ILT, encargados de reconocer las moléculas de clase I, para infiltrarse en la decidua materna, estando en estrecho contacto con las células trofoblásticas (Lagos, et al., 2013).

Aunque la mayoría de los casos de preeclampsia son esporádicos, se cree que los factores genéticos juegan un rol importante en la susceptibilidad a esta patología. Por ejemplo, las primigestas con antecedentes familiares de preeclampsia, ya sea madre o hermana, tienen entre dos a cinco veces más riesgo de presentar preeclampsia que las mujeres primigestas sin estos antecedentes (Lagos, et al., 2013).

2.3 Tipos de preeclampsia

2.3.1 Preeclampsia leve

Se le detecta preeclampsia leve a una embarazada cuando su presión arterial está entre los 140/ 90 mmHg y 159/ 109 mmHg (Elebarazo, 2017).

El tratamiento que se sigue para la preeclampsia leve no supone ningún tipo de trastorno neurológico, es de reposo en casa, llevando una dieta blanda, sin consumir sal que afecta negativamente a la tensión y tomando el medicamento recetado previamente por el médico que no afecte a la salud del bebé (Elebarazo, 2017).

2.3.2 Preeclampsia severa

La preeclampsia severa supone, a diferencia de la preeclampsia leve, síntomas neurológicos, y se detecta cuando la presión arterial de la embarazada es mayor a 160/ 110 mmHg (Elebarazo, 2017).

En este caso, tras ser detectada, requiere de un ingreso en el hospital para tener controlada a la embarazada y evitar las convulsiones, por lo que se le administra medicación para ello. A partir de este momento tendrá un seguimiento más estricto de su embarazo y su estado de salud para evitar posibles problemas en la gestación (Elebarazo, 2017).

2.4 Factores de riesgo

Los factores de riesgo de PE han sido clasificados o divididos de diferente manera por varios autores. Unos los dividen en genéticos y medioambientales, mientras que otros en preconcepciones o crónicos y vinculados con el embarazo. En otros estudios epidemiológicos se ha encontrado que son clasificados en modificables y no modificables, visión que pudiera ser más operativa y práctica, ya que acepta o da la opción de cambiar algunos de ellos, en este caso, los que se consideran modificables. También se acepta la división en placentarios y maternos (Cruz, Pilar, Yanes, & Isla, 2007).

2.4.1 Factores de riesgos maternos preconcepcionales.

Edad Materna: Múltiples conjeturas han tratado de explicar este riesgo incrementado. Se ha planteado que las mujeres mayores de 35 años padecen con mayor frecuencia enfermedades crónicas vasculares, y esto facilita el surgimiento de la PE. Por otra parte, se ha dicho que en el caso de las pacientes muy jóvenes se forman con mayor frecuencia placentas anormales, lo cual le da valor a la teoría de la placentación inadecuada como causa de la PE (Cruz, et al., 2007).

Raza negra: la PE aparece con mayor frecuencia en las mujeres de esta raza, lo cual ha sido explicado por el hecho de que la hipertensión arterial crónica es más frecuente y severa en estas personas. Además, la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 también son más prevalentes en la población afronorteamericana de los EE.UU (Cruz, et al., 2007).

Historia familiar de preeclampsia: en estudios familiares observacionales y descriptivos se ha encontrado un incremento del riesgo de padecer PE en hijas y hermanas de mujeres que sufrieron esta patología durante su gestación. Se plantea

que las familiares de primer grado de consanguinidad de una mujer que ha padecido PE, tienen de 4 a 5 veces mayor riesgo de presentar la misma cuando se embarazan. Igualmente, las familiares de segundo grado tienen un riesgo de padecerla de 2 a 3 veces mayor, comparado con aquellas mujeres en cuyas familias no hay antecedentes de esta enfermedad (Cruz, et al., 2007).

Historia personal de preeclampsia: se ha observado que entre un 20 y 50 % de las pacientes que padecieron PE durante un embarazo anterior, sufren una recurrencia de la enfermedad en su siguiente gestación (Cruz, et al., 2007).

Presencia de algunas enfermedades crónicas.

Hipertensión arterial crónica: es conocido que un alto índice de enfermedad hipertensiva del embarazo se agrega a la hipertensión arterial preexistente, y que en la medida en que es mayor la tensión arterial pregestacional, mayor es el riesgo de padecer PE (Cruz, et al., 2007).

Obesidad: se asocia con frecuencia con la hipertensión arterial, y provoca una excesiva expansión del volumen sanguíneo y un aumento exagerado del gasto cardíaco, que son necesarios para cubrir las demandas metabólicas incrementadas, que esta le impone al organismo, lo que contribuye a elevar la tensión arterial (Cruz, et al., 2007).

Diabetes mellitus: en la diabetes mellitus pregestacional puede existir microangiopatía y generalmente hay un aumento del estrés oxidativo y del daño endotelial, todo lo cual puede afectar la perfusión uteroplacentaria y favorecer el surgimiento de la PE, que es 10 veces más frecuente en las pacientes que padecen esta enfermedad (Cruz, et al., 2007).

Resistencia de la insulina: se ha reunido evidencia para considerar la resistencia a la insulina como un factor de riesgo de PE; sin embargo, el embarazo por sí mismo está asociado con una reducción y sensibilidad de la misma, por lo que es difícil precisar a partir de qué grado la resistencia a la insulina comienza a ser anormal durante la gestación (Cruz, et al., 2007).

2.5 Epidemiología.

La mortalidad materna es un indicador de la calidad en la asistencia y en el cuidado de la salud de la gestante. Se considera muerte materna temprana todo deceso ocurrido desde el inicio de la gestación hasta los 42 días del puerperio, causada por complicaciones propias de la gestación como es la preeclampsia, conocida como causa directa, o por agravamiento de situaciones clínicas precedentes o agregadas, conocidas como causa indirecta (Piedrahita & Agudelo, 2010).

A nivel mundial, la incidencia de preeclampsia oscila entre 2-10 % de los embarazos, la cual es precursor de la eclampsia y varía en todo el mundo. La OMS estima que la incidencia de preeclampsia es siete veces mayor en los países en desarrollo que en los desarrollados (2,8 % y 0,4 % de los nacidos vivos respectivamente (Vargas, Acosta, & Moreno, 2012).

La tasa de preeclampsia varía entre un 5 % y un 10 % en los países desarrollados, pero esta cifra podría elevarse hasta alcanzar un 18 % en algunos países en vías de desarrollo. La preeclampsia persiste como una causa principal de morbimortalidad materna y perinatal en todo el mundo (MSP, 2013).

En algunos países en vías de desarrollo, la preeclampsia representa entre un 40 % y un 80 % de las muertes maternas. Además, la mortalidad perinatal se quintuplica en las mujeres con preeclampsia con frecuencia debido a la restricción del crecimiento intrauterino y a los partos prematuros (MSP, 2013).

Alrededor de la mitad de las mujeres con preeclampsia severa se presentan en el centro de salud antes de las 34 semanas de gestación, con un peso fetal estimado de menos de 2000 g. Aproximadamente la mitad de las que se presentan antes de las 34 semanas de gestación requieren que se determine la finalización de su embarazo por razones fetales o maternas dentro de las 24 horas del ingreso al hospital. La mitad restante contará con un promedio de nueve días más antes de que reciban indicación de nacimiento (MSP, 2013).

La preeclampsia es frecuente con una prevalencia estimada en un 2,3 % de todos los embarazos en los países en vías de desarrollo (MSP, 2013).

2.6 Síntomas

En muchas ocasiones la primera manifestación de la enfermedad es la elevación de las cifras tensionales que generalmente es asintomática y es indagada en el control prenatal (Camacho & Berzain, 2015).

Una vez confirmado el diagnóstico de hipertensión, se realizará un análisis de orina para descubrir si hay presencia de proteínas (Santos, 2011). La proteinuria es considerada patológica cuando la concentración de proteínas es mayor a 300 mg en orinas de 24 Hs. La magnitud de la proteinuria reviste especial importancia para evaluar severidad y progresión de la preeclampsia (Avena, Joerin, Veronica, Dozdor, & Bres, 2007).

En muchos casos, la preeclampsia lleva asociadas alteraciones que pueden afectar al feto, especialmente una insuficiencia de la placenta que ocasionará un crecimiento intrauterino retardado (CIR), es decir, que el bebé crece por debajo de lo que indica su edad gestacional. Si no se trata, la preeclampsia grave puede dañar los riñones, el hígado y el cerebro de la mujer. En casos muy graves, aparecen convulsiones y entonces se denomina eclampsia, enfermedad peligrosa que puede desembocar en un coma. Afortunadamente, mediante la identificación de la preeclampsia y el seguimiento de los protocolos adecuados, muy rara vez se llega a esa situación (Santos, 2011).

2.7 Tratamiento

El tratamiento de la preeclampsia consiste en terminar el embarazo. Si el feto está a término, saludable y el cuello uterino es favorable, se indica inducir el parto; pero, si hay sufrimiento fetal o restricción del crecimiento intrauterino, no queda otra alternativa que la cesárea. Cuando el feto es inmaduro, la condición del feto y de la madre es la que señalará el camino a seguir. Se terminará inmediatamente el embarazo si la hipertensión severa persiste luego de tratamiento por 24 a 48 horas, si hay trombocitopenia, enzimas hepáticas elevadas, disfunción renal progresiva, signos premonitorios de eclampsia, ascitis materna determinada por ecografía o evidencia de sufrimiento fetal (Pacheco, 2006).

Embarazos de ≥ 37 semanas: No hay evidencia que la prolongación del embarazo genere beneficios perinatales; al contrario, el riesgo materno se mantiene o empeora si no se interrumpe la gestación, por lo tanto, la conducta adecuada es iniciar la interrupción del embarazo en pacientes con trastornos hipertensivos y embarazos con edades gestacionales ≥ 37 semanas. La vía de terminación es la vaginal y se hace cesárea por indicación obstétrica (Berzaín Rodríguez & Caamacho Terceros, 2015).

Embarazos de 34-36 semanas con 6 días: No hay investigaciones clínicas aleatorizadas que prueben cual es la mejor conducta en pacientes con trastorno hipertensivo grave a esta edad gestacional. La recomendación de la OMS es un poco cautelosa y controversial al señalar que si hay estabilidad materna y se ha controlado la hipertensión se puede retrasar la interrupción; es obvio que esta conducta conlleva a evitar las serias complicaciones neonatales observadas en nacimientos prematuros. Es necesaria la realización de investigaciones clínicas aleatorizadas a estas edades gestacionales para determinar los beneficios y daños de la no interrupción en pacientes con estabilidad materna y fetal (Berzaín Rodríguez, et al., 2015).

Embarazos con 24-34 semanas: En estos embarazos hay pocos estudios clínicos aleatorizados. Toda paciente con trastorno hipertensivo grave y estas edades gestacionales deben recibir el esquema de corticoides para maduración fetal con betametasona (12 mg Intramuscular al inicio y repetir en 24 horas) o dexametasona (6 mg Intramuscular cada 6 horas, por 4 dosis) y programar la interrupción luego de las 24 horas después de la última dosis (Berzaín Rodríguez, et al., 2015).

El manejo conservador consiste en prolongar el embarazo luego de la administración de los corticoides. Se puede dar en pacientes sin crisis hipertensivas, sin sintomatología, sin complicaciones, sin restricción del crecimiento fetal y consentimiento firmado. El objetivo es llegar a una edad gestacional que mejore la sobrevida neonatal (Berzaín Rodríguez, et al., 2015).

Embarazo \leq 24 semanas: Independientemente del manejo dado, conservador o interrupción, la mortalidad perinatal sigue siendo alta según la revisión más reciente del tema. Por lo anterior se recomienda la interrupción del embarazo con trastorno hipertensivo grave en edades gestacionales menores de 24 semanas (Berzaín Rodríguez, et al., 2015).

2.8 Prevención

Según Huertas, (2006) existen diferentes niveles y estrategias de prevención; así, tenemos la prevención primaria, que consiste en la prevención de la aparición de la preeclampsia. La prevención secundaria incluye las medidas destinadas a la detención, reversión o disminución de su progresión. Y, finalmente, la prevención terciaria consiste en la prevención de las complicaciones, una vez establecida la preeclampsia.

Cuadro 1. Estrategias de prevención de preeclampsia.

Suplementos nutricionales	Se ha propuesto varias hipótesis que vinculan la preeclampsia con deficiencias dietarias específicas, tanto antes como durante el embarazo.
Ácidos Omega 3	El uso de suplementos de aceite de pescado durante la segunda mitad del embarazo es otra de las estrategias propuestas para prevenir la génesis de la preeclampsia.
Nutrición y dieta (ingesta de sal)	Actualmente, en la mayor parte del mundo, no se recomienda a las mujeres alterar su consumo de sal durante el embarazo.
Vitamina D	Algunos estudios observacionales han reportado una asociación entre la deficiencia de vitamina D y un mayor riesgo de preeclampsia, pero un estudio prospectivo de cohortes de preeclampsia no encontró asociación.
Farmacológico.	
Óxido nítrico	Las mujeres con preeclampsia pueden ser deficientes de óxido nítrico, que media la vasodilatación arterial e inhibe la agregación plaquetaria. Sin embargo, no hay pruebas que determinen que la administración de óxido nítrico prevenga la preeclampsia.

2.9 Genoma

El genoma es un depósito de información biológica, pero por sí mismo es incapaz de liberar esa información a la célula. La utilización de la información biológica contenida en el genoma requiere la actividad coordinada de enzimas y otras proteínas, que participan en una compleja serie de reacciones bioquímicas conocida como expresión del genoma (Brown, 2007).

2.10 Gen

Es la unidad funcional de herencia. Tradicionalmente se ha considerado que un gen es un segmento de ADN que contiene la información necesaria para la producción de una proteína que llevará a cabo una función específica en la célula. Hay muchos elementos del genoma que tienen una función concreta y no codifican para una proteína, como por ejemplo aquellos que dan lugar a ARNs funcionales. Si se utiliza una denominación más amplia de “gen” como elemento funcional, podemos considerar que estos elementos también son genes. Muchos genes están compuestos por intrones y exones (Lewowicz, 2017).

2.11 Mutación

Se define la mutación como una alteración en la secuencia del ADN de un individuo que se transmite por herencia a sus descendientes. La forma inalterada del ADN llamada tipo salvaje o silvestre, se convierte así en otra forma, portadora de la mutación o tipo mutante. Las mutaciones se producen por errores en la replicación, por la alteración espontánea de nucleótidos o debido a la acción de agentes físicos o químicos, pero nunca como consecuencia de la recombinación meiótica entre cromosomas homólogos (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

Las mutaciones tienen lugar en todo el genoma, incluyendo las secuencias codificantes o no codificantes, del genoma nuclear o mitocondrial, en células germinales o somáticas. Por tanto, la mutación es, junto con la recombinación meiótica, la principal fuente de variabilidad genética en todo tipo de organismos (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

Aunque muchas mutaciones se generan al azar y existe la misma susceptibilidad de mutación en todas las regiones del genoma, las que ocurren sobre el ADN codificante (3 % del total) tienen peores consecuencias. Dentro de esta mutación génica se debe distinguir entre la de la región del gen directamente responsable de la información (región estructural), que altera el ARN o la proteína sintetizada, y la que ocurre en las secuencias no codificantes del gen implicadas en el control de la expresión (región reguladora), que no altera la proteína sino su la síntesis (aumento o descenso en concentración) (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

2.11.1 Clasificación de las mutaciones

Existen diversos conceptos para clasificar las mutaciones y se evalúan bajo tres criterios: tipo de célula, magnitud de la mutación, y mecanismos causantes de la mutación (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

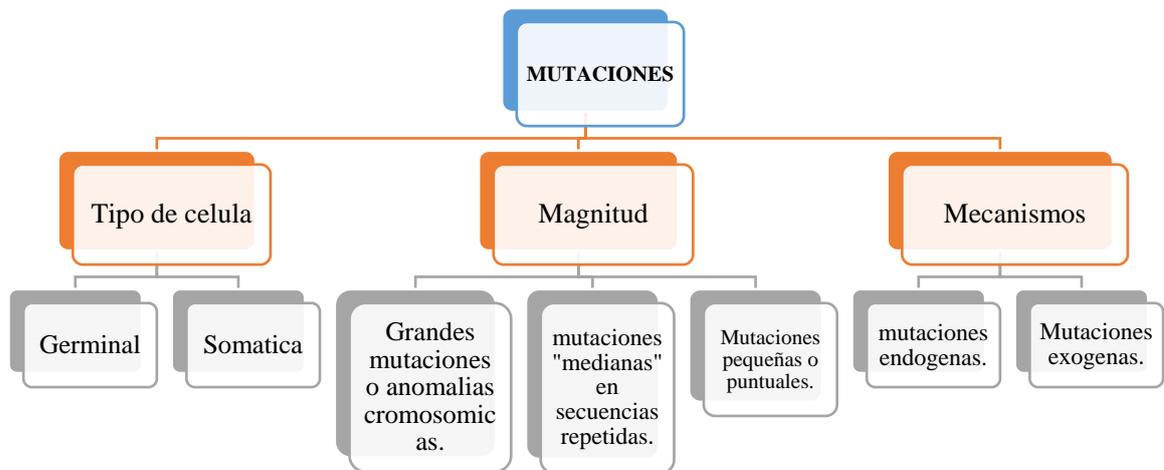


Figura 1 Clasificación de mutación.

Fuente: (Luque & Herráez, 2006)

2.11.2 Tipo de célula que sufre mutación

Mutación en células de la línea germinal

Se origina en alguna de las divisiones mitóticas o meióticas de la gametogénesis, a partir de células progenitoras diploides de las gónadas. La mutación puede no influir en el fenotipo de la célula o individuo que la sufre, ni en la capacidad reproductora de este, pero, puesto que el genoma se transmite a la descendencia, la mutación se hereda, transmitiéndose a todas las células del organismo hijo y generando en su caso, la alteración o enfermedad hereditaria (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

Las mutaciones en la línea germinal son habitualmente acontecimientos esporádicos, minoritarios y relativamente infrecuentes en la población humana.

2.11.3 Magnitud de la mutación.

Mutaciones a pequeña escala o puntuales.

El estudio de las mutaciones en función de su magnitud, longitud o grado de la lesión permite clasificarlas en pequeña y gran escala. Las anomalías a gran escala ocurren por duplicaciones, pérdidas o reagrupamientos que alteran una región de millones de pares de bases y se reflejan en la estructura del cromosoma (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

Las mutaciones a pequeña escala, sencillas, puntuales, mínimas o micromodificaciones, implican normalmente a un solo nucleótido (y, como consecuencia a su complementario en la otra hebra del DNA). Sin embargo, también se incluyen aquí aquellas otras lesiones a pequeña o mediana escala que afectan a varios pares de bases (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

Cuadro 2. Clases y tipos de mutaciones, y su grado de incidencia.

Clases y tipos de mutaciones puntuales y medianas, y su grado de incidencia		
Clase	Tipo	Incidencia
		Tipo de mutación comparativamente común en ADN codificante y no codificante.
<u>Sustitución</u>	Transiciones y transversiones	Más comunes las transiciones que las transversiones, sobre todo en ADN mitocondrial.
	Sustituciones sinónimas y no sinónimas	Las sinónimas son mucho más comunes que las no sinónimas en ADN codificante; las conservadoras son más comunes que las no conservadoras.
	Sustitución de múltiples bases	Infrecuente, excepto en ciertos <i>loci</i> repetidos en <i>tándem</i> o repeticiones agrupadas.
Inserción	De uno o unos pocos nucleótidos	Muy común en ADN no codificante pero infrecuente en ADN codificante
	Expansiones repetidas de tripletes	Infrecuente, pero puede contribuir a varios trastornos, especialmente neurológicos.
	Otras inserciones grandes.	Infrecuente; produce ocasionalmente duplicaciones en <i>tándem</i> e inserción de elementos transponibles.
Eliminación o deleción	De uno o unos pocos nucleótidos	Muy común en ADN no codificante pero infrecuente en ADN codificante
	Grandes deleciones	Infrecuente; ocurre a menudo en regiones que contienen repeticiones en <i>tándem</i> o entre repeticiones dispersas.

2.11.4 Cambios en la secuencia del ADN

La descripción de los distintos tipos de mutaciones se hará atendiendo a su causa a nivel molecular en el ADN: mutaciones por sustitución, por inserción, y por deleción (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

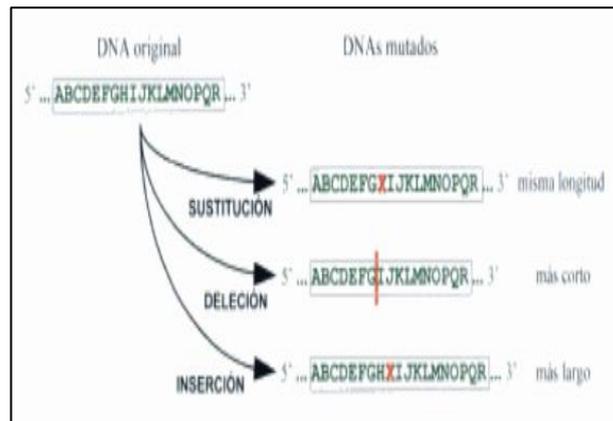


Figura 2 Cambios en la secuencia de ADN

Fuente: (Luque & Herráez, 2006)

2.11.4.1 Sustitución.

La mutación consiste en la aparición de un nucleótido (coloquialmente, una base) en una posición de la secuencia ocupada originalmente por otro; dicho de otro modo, un cambio de una sola base (o nucleótido) (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

Según la naturaleza purínica o pirimídica de las dos bases implicadas, se distinguen entre transición y transversión (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

2.11.4.1.1 Transiciones

Son sustituciones de una pirimidina por otra (C→T; T→C) o de una purina por otra (A→G o G→A). Existen, 4 posibilidades, una para cada base original:

transición	par inicial	par final
A → G	A/T	G/C
G → A	G/C	A/T
T → C	T/A	C/G
C → T	C/G	T/A

Figura 3 Sustitución de transición.

Fuente: (Luque & Herráez, 2006)

2.11.4.1.2 Transversiones

Son sustituciones de una purina por una pirimidina (A o G; T o C) o viceversa (T o C; A o G). Existen 8 posibilidades, dos por cada base original:

transversión	par inicial	par final
A → T	A/T	T/A
A → C	A/T	C/G
G → T	G/C	T/A
G → C	G/C	C/G
T → A	T/A	A/T
T → G	T/A	G/C
C → A	C/G	A/T
C → G	C/G	G/C

Figura 4 Sustitución de transversión.

Fuente: (Luque & Herráez, 2006)

2.11.5 Mutaciones silenciosas

Se las llama también sinónimas, neutrales, asintomáticas o con sentido, y son muy numerosas. Se caracterizan porque, a pesar de haber cambio en la secuencia del DNA, no se altera la secuencia de su producto proteico. Esto es posible debido a la degeneración del código genético. Normalmente, la mutación es silenciosa porque afecta a la 3 base de un codón de tal forma que el nuevo triplete es sinónimo del original, es decir, codifica el mismo aminoácido (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

2.11.6 Mutaciones no silenciosas

La alteración en la secuencia de nucleótidos afecta a la secuencia proteica, pues codifica uno o varios aminoácidos diferentes de la secuencia original. Dependiendo del efecto que tenga la alteración de la secuencia proteica sobre su función, se puede distinguir entre mutaciones con efecto beneficioso o positivo (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

a) Mutaciones que alteran el sentido.

Contrariamente a las mutaciones silenciosas, donde la sustitución de una base origina un nuevo triplete que codifica el mismo aminoácido, es más común que dicho cambio produzca un codón nuevo que codifica un aminoácido diferente. Se les llama por ello mutaciones no sinónimas, de sentido equivocado, falso o alterado (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

b) Mutaciones que cambian el marco de lectura.

El desplazamiento, desfase o cambio del marco de lectura consiste en que la inserción o deleción de nucleótidos, aun sin afectar en gran medida a la secuencia de bases, cambia la forma como se leen los tripletes, por lo que produce una alteración importante en la secuencia de la proteína (Luque & Herráez, 2006); (Herráez, 2012).

c) Mutaciones que no cambian el marco.

La inserción o deleción de 3 pb en el ADN (o múltiplos de tres) aunque añade o elimina algún aminoácido a la proteína, no cambia el marco de lectura, por lo que el resto de la secuencia aminoacídica es normal. El efecto de estas mutaciones es, por tanto, mucho menor y puede no afectar a la función de la proteína (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

d) Mutaciones con terminación prematura de la proteína.

Algunas mutaciones no afectan a la secuencia de aminoácidos codificados, sino que la sustitución, la inserción o la deleción de uno o varios nucleótidos tiene como efecto la aparición de un codón de terminación o de paro. Como consecuencia se provoca el cese prematuro de la traducción del ARNm y se obtiene una proteína acortada (en su región C-terminal) (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

e) Mutaciones con terminación retrasada.

De la misma forma que una mutación puntual puede provocar la aparición de un codón de terminación, también puede eliminar uno existente, sustituyéndolo por otro que codifica un aminoácido. En ese caso la traducción del ARNm continúa más allá del extremo 3 codificante original, hasta que se alcance un nuevo codón de terminación. Por tanto, se sintetiza una proteína de mayor longitud, cuya secuencia de aminoácidos en la región C-terminal no tiene significado funcional. Las consecuencias fenotípicas son, en general, similares a las de la terminación prematura (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

2.11.7 Causas y mecanismos básicos de las mutaciones

El DNA está sometido a daños, lesiones y modificaciones de diversos tipos, provocados por distintas causas. Estas pueden ser fortuitas o endógenas y provocadas, inducidas o exógenas (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

2.11.7.1 Mutaciones endógenas.

Son mutaciones que se generan por situaciones o agentes propios del ambiente intracelular, bajo condiciones normales. Estos son la fuente mayoritaria de mutaciones. Pueden originarse por errores en la replicación, o bien por reacciones que ocurren de forma espontánea como consecuencia de la inestabilidad química de la molécula de ADN o de la acción de subproductos del metabolismo celular (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

2.11.7.2 Otras mutaciones espontáneas.

Las bases en el ADN pueden experimentar espontáneamente reacciones que transforman su identidad, de modo que si no son corregidas por los sistemas de reparación se convierten en una mutación (Luque & Herráez, 2006; Herráez, 2012).

2.12 Polimorfismo

En términos científicos, el polimorfismo se define como la existencia simultánea en una población de genomas con distintos alelos para un locus determinado. Los alelos son variaciones de la secuencia del ADN presente en una posición definida (*locus*) en un cromosoma (Checa Caratachea, 2007; Herráez, 2012).

Según Alcoceba Sánchez, (2010) los polimorfismos pueden ir desde la modificación de una sola base hasta cambios en número o tamaño en la unidad de repetición. Podríamos denominarlos en función del tipo de cambio que se produce:

Polimorfismos de secuencia. Se producen por el cambio de uno o más nucleótidos en una secuencia del ADN, sin modificación de tamaño. Suelen ser poco polimórficos y son típicos del ADN codificante.

Polimorfismos de longitud. Se producen por la inserción o delección de uno o más nucleótidos. Este tipo es el más abundante en el ADN repetitivo, sobre todo en el ADN mini- y microsatélite.

Se puede hacer otra denominación en base al número de alelos que presentan:

Polimorfismos bialélicos. Aquellos que se presentan únicamente con dos variantes posibles. Ejemplo de ellos son los polimorfismos de nucleótido simple (SNP, *Single Nucleotide Polymorphism*), alelos nulos y polimorfismos de inserción / deleción (Alcoceba Sánchez, 2010).

Polimorfismos multialélicos. Aquellos que presentan más de dos variantes para el mismo locus. Algunos ejemplos son el ADN repetitivo (minisatélites, microsátélites) o el sistema HLA (Alcoceba Sánchez, 2010).

2.13 Catecol-o-metiltransferasa (COMT).

La COMT es una enzima clave en la degradación de catecolaminas y estrógenos. Se ha descubierto variantes de COMT de actividad alta y baja, debido a modificaciones de base única. Un polimorfismo con implicancias funcionales es un cambio de base G por A (Pacheco Romero, Huerta, Cabrera, & Acosta, 2013).

Este polimorfismo resulta en la sustitución del aminoácido valina por metionina en los codones 108 y 158, en las isoformas de COMT soluble y ligada a la membrana, respectivamente. El alelo Met(A) de este polimorfismo se asocia con una disminución de 3 a 4 veces de la actividad de la enzima COMT y varias condiciones clínicas (Pacheco Romero, et al., 2013).

La enzima es codificada por el gen COMT, en el cromosoma 22, tiene dos alelos polimórficos (Val=Valina o H=High o G=Guanina, y Met=Metionina o L=Low o A=Adenina) y da lugar a 3 genotipos: Val/Val (HH=actividad

enzimática alta), Val/Met (HL=actividad enzimática media) y Met/Met (LL=actividad enzimática baja) (Huerta, et al., 2007).

2.13.1 COMT y preeclampsia.

Recientemente, uno de los genes cuya expresión mostró potencial como un gen candidato para PE ha sido el gen de la catecol-O-metiltransferasa (COMT). El COMT es una de las principales enzimas responsables de inactivación de catecol-estrógenos, que juegan un papel importante en el manejo del embarazo y del desarrollo fetal. El polimorfismo consiste en una sustitución nucleotídica de G por A en la posición 4680 del gen, lo que resulta en una sustitución aminoacídica de Valina a Metionina en la posición 158 de la proteína (Jin Hyae, et al., 2010; Valderrama, Gallo, & Cifuentes, 2011).

Desde el año 2008 se viene dando un gran revuelo en la genómica de la preeclampsia por los hallazgos con el gen de Catechol-O-methyltransferase (COMT) (Valderrama, et al., 2011).

La concentración de 2-ME durante el embarazo, en la circulación materna, aumenta paulatinamente hasta alcanzar un pico máximo entre las semanas 37 y 40 del embarazo. En preeclampsia severa, los niveles de 2-ME se suprimen. De hecho, recientemente se describió que la ausencia completa del gen COMT en un modelo murino, logra reproducir síntomas similares a la preeclampsia y a la hipoxia placentaria, incluyendo: hipertensión, proteinuria y pérdida fetal. Pero lo que es aún más interesante, es que la administración de 2-ME exógeno mejora la hipertensión y la proteinuria (Valderrama, et al., 2011).

La variabilidad en los niveles de 2-ME parece ser consecuencia de un polimorfismo funcional en la secuencia codificante del gen COMT. La forma Met 158 tiene más baja estabilidad y menor actividad enzimática a temperatura corporal. La frecuencia alélica de este polimorfismo es de 25-30 % en la población humana y hasta la fecha solo se ha establecido claramente su asociación con restricción del crecimiento (Valderrama, et al., 2011).

2.13.2 Gen COMT y el polimorfismo rs4680.

El polimorfismo consiste en una sustitución de Guanina por Adenina que se traduce en una sustitución de Valina a Metionina en la posición 158 de MB-COMT o en la 108 de S-COMT, razón por la cual es comúnmente conocido como COMT Val158Met. El cambio de este aminoácido supone una diferencia substancial en la función enzimática debido a que Metionina es un aminoácido hidrófilo, mientras que Valina es hidrófobo (Pelayo Terán, 2010; Jin Hyae, et al., 2010; Valderrama, et al., 2011).

Esta variación conduce a un cambio conformacional de la proteína COMT, haciendo que las formas Met158 sean menos termoestables. Esta menor estabilidad implica que el enzima sea menos activo a temperaturas fisiológicas y de hecho, en muestras de tejido cerebral se ha demostrado que los sujetos con formas Met158 homocigotos tienen una actividad de COMT un tercio menor que aquellos sujetos homocigotos para la forma Val158. Estos alelos son codominantes (en sujetos heterocigotos, la mitad de las moléculas enzimáticas serán Val158 y la otra mitad Met158) de modo que los sujetos heterocigotos presentan una actividad enzimática intermedia, lo cual explica la distribución trimodal de los niveles de actividad del enzima COMT (Pelayo Terán, 2010).

2.13.3 Polimorfismos variantes del COMT

Las variantes polimórficas de COMT, en particular el polimorfismo Val158met funcional bien estudiado, han atraído una atención significativa como posibles marcadores genéticos, dado el papel crucial que juega COMT en la modulación de la función dopaminérgica y el metabolismo de los catecolestrógenos (Nessinen, 2007).

La gran mayoría de estos polimorfismos están fuera de la secuencia de codificación y son de función desconocida. Sin embargo, algunos polimorfismos y haplotipos de nucleótido único son de función conocida o se han relacionado con la expresión de ARNm de COMT (Nessinen, 2007); (Jin Hyae, et al., 2010; Valderrama, et al., 2011).

2.13.4 Otros polimorfismos del gen COMT

El polimorfismo Val158Met se considera como el más importante en cuanto a la variación de la actividad del enzima, sin embargo, otros polimorfismos conocidos del gen COMT han sido descritos como posibles reguladores de esta actividad, aunque con una relevancia cuantitativamente menor. Algunos de estos son rs737865 (localizado en el intrón 1), rs165599 (en la región flanqueante 3') y rs2097603 (en la región promotora P2). Mientras que los dos primeros podrían ejercer una función reguladora en la transcripción a ARN mensajero, rs2097603 se ha propuesto como otra posible variante funcional (Nessinen, 2007).

2.14 Genética de la preeclampsia.

Un gran número de autores aceptan que el síndrome preeclampsia/eclampsia tiene un estrecho componente familiar. Hijas de madres preclámplicas tienen una alta probabilidad de desarrollar preeclampsia/ eclampsia, hasta un 30 % de hijas de madres con preeclampsia presentan esta patología durante sus embarazos (Arenas & Mesa, 2008).

El tipo de herencia asociado a la aparición de la preeclampsia ha sido motivo de gran investigación y debate. Dentro de las hipótesis establecidas está la que propone que la susceptibilidad podría ser heredada por un gen único materno, autosómico recesivo, o por un gen dominante con penetrancia incompleta (Arenas & Mesa, 2008).

Se ha logrado establecer que la preeclampsia no está influenciada por un modelo genético materno exclusivo, pues se sabe hoy el impacto de los genes fetales, encontrando que tanto madre como feto contribuyen igualmente al riesgo de preeclampsia; en este sentido, la contribución fetal estaría afectada por genes paternos. En los hombres cuyas madres padecieron una preeclampsia durante su gestación, se tiene hasta un 100 % más riesgo de que una mujer por ellos embarazada desarrolle esta enfermedad durante la gestación. Esta heterogeneidad hace que la preeclampsia sea considerada actualmente como una enfermedad genéticamente compleja que no sigue un patrón de herencia mendeliano (Arenas & Mesa, 2008).

Arenas et al., (2008) Afirma que varias investigaciones han informado de la asociación entre la preeclampsia y diferentes genes polimórficos, sin embargo, la falta de reproducibilidad de la genética, y la falta de estudios de casos y controles, ha llevado a la incertidumbre acerca de la naturaleza y el número de genes que contribuyen al riesgo de la preeclampsia.

Para el análisis genético de este síndrome se utilizan dos tipos de metodologías. La primera, por medio de estudios de ligamiento genético identificando regiones cromosómicas en familias en las que se haya presentado la entidad a estudio. La segunda, por medio de estudios de asociación tratando de identificar genes candidatos implicados en el desarrollo de la enfermedad (Arenas & Mesa, 2008).

Los estudios de asociación genética han demostrado la asociación de diferentes genes con diferentes procesos fisiopatológicos; no obstante, cada uno de ellos está asociado con un tipo especial de población y no se ha encontrado consistentemente en diferentes poblaciones (Arenas & Mesa, 2008).

2.15 Marcadores bioquímicos asociados a preeclampsia.

A pesar de las décadas de investigación no se ha logrado esclarecer qué marcador o marcadores permiten seleccionar a aquellas gestantes con riesgo “*a priori*” de desarrollar PE. De lograrlo, facilitaría la selección para una supervisión más cercana. Más aún, la predicción de PE en mujeres con patologías subyacentes (diabetes, hipertensión crónica, etc.) sería de gran valor clínico. Por tanto, son necesarios más estudios en los que se investigue el papel de distintos marcadores, ya que podrían ser útiles y potenciales agentes terapéuticos de diagnóstico para una enfermedad que aún se basa exclusivamente sobre parámetros clínicos (Martínez, 2008).

Los marcadores bioquímicos que se han propuesto como posibles predictores de PE, pueden clasificarse en función de su mecanismo fisiopatológico (Martínez, 2008).

Cuadro 3. Marcadores bioquímicos predictores de preeclampsia.

Relacionados con la disfunción de la perfusión placentaria y resistencia vascular
Renina
Proteína ligadora de la angiotensina II placentaria
Relacionados con la función endocrinológica.
Gonadotropina Coriónica humana
Proteína plasmática A asociada al embarazo (PAPP-A)
Alfa-fetoproteína
Proteína placentaria 13
Relacionados con la disfunción renal
Microalbumina
Ácido úrico
Relacionados con la disfunción endotelial y estrés oxidativo
Antitrombina III
Apolipoproteína E
Citoquinas
Factor de crecimiento placentario (PIGF)
Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)

2.15.1 Marcadores bioquímicos predictores de preeclampsia

Los marcadores bioquímicos de preeclampsia poseen un amplio rango de valor predictivo entre el 10 o 80 %, las combinaciones entre ellas ha mejorado notablemente la detección, en especial de preeclampsia temprana, sin embargo la Organización Mundial de la Salud no ha definido el mejor marcador ni las estrategias de *screening* que permiten identificar mujeres con alto riesgo de desarrollo de preeclampsia (Martínez, 2008).

2.15.1.1 Factor de crecimiento placentario

Es un factor que pertenece a la familia del VEGF. De entre sus funciones se destaca que promueve la viabilidad de las células endoteliales, produce un efecto quimiotáctico sobre los monocitos e interviene en procesos de angiogénesis. Se estudió por primera vez en tejido placentario y más tarde en corazón y en pulmón (Martínez, 2008).

La tendencia esperada de las concentraciones de PIGF en gestaciones normales es un aumento ininterrumpido durante los dos primeros trimestres de embarazo, con un pico máximo en 29-32 semanas de gestación, disminuyendo posteriormente (Martínez, 2008).

Diversos estudios apuntan a que el PIGF es un prometedor marcador predictor de PE en el primer trimestre de gestación para incluirlo en un futuro test de cribado. Sus concentraciones en gestantes con PE son estadísticamente menores respecto a gestantes que no desarrollan dicha patología (Martínez, 2008).

Otros estudios evalúan el papel del PIGF como predictor de PE en el segundo trimestre de gestación y concluyen que las gestantes con PE al igual que en el primer trimestre de gestación presentan concentraciones estadísticamente menores (Martínez, 2008).

2.15.1.2 Proteína A asociada al embarazo (PAPP-A)

La PAPP-A, es generalmente utilizada en el *screening* para el síndrome de Down y en la predicción de restricción de crecimiento intrauterino, sin embargo se ha estudiado su utilidad como biomarcador temprano para predicción de

preeclampsia asociado a estudio por ultrasonido Doppler, pues el valor predictivo por sí mismo de la PAPP-A es de apenas 8 a 21%, mientras que en protocolo combinado su valor alcanza el 70% en el primer trimestre (Martínez, 2008).

Los niveles elevados de PAPP-A en estados de preeclampsia o HELLP no predice la severidad de estas complicaciones (Martínez, 2008).

2.15.1.3 Homocisteína

La homocisteína es un aminoácido azufrado que interviene en el metabolismo de la metionina y la cisteína, presente en bajas concentraciones en la sangre y en las células humanas. El aumento en sus niveles se ha relacionado con el desarrollo de arterioesclerosis grave y se ha considerado un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular, incluyendo la trombosis venosa y el daño neurotóxico; por tanto esta alteración podría ser un factor de riesgo para el desarrollo de preeclampsia (Pertegal, 2015).

2.16 Técnicas moleculares

2.16.1 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

La reacción en cadena de la polimerasa es una reacción enzimática *in vitro* que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanco es copiada fielmente (Ibarra, Velasquillo, & Tamay, 2013).

Para ello, la reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar naturalmente el ADN en las células. En la reacción, si usamos como sustrato ADN genómico, entonces típicamente hablamos de una PCR, pero si usamos ADN complementario (ADNc) proveniente del ARNm (ácido ribonucleico mensajero) se le conoce como RT-PCR (*Reverse Transcription-PCR*, por sus siglas en inglés) (Ibarra, et al., 2013; Herráez, 2012).

2.16.2 PCR tiempo real (Q-PCR): fundamento.

Los primeros que sentaron las bases para desarrollar la PCR en tiempo real fueron Higuchi y colaboradores, en 1992, al videograbar en tiempo real la incorporación de bromuro de etidio al ADN durante cada ciclo de la PCR realizada bajo luz UV. Desde entonces, el objetivo de la PCR en tiempo real ha sido detectar y cuantificar las secuencias específicas de ácidos nucleicos mediante el uso de reporteros fluorescentes en la reacción. (Ibarra, Velasquillo, & Tamay, 2013; Herráez, 2012).

Actualmente, la PCR en tiempo real es el método más sensible para detectar y cuantificar los ácidos nucleicos. Aun teniendo una cantidad muy pequeña de templado, el sistema garantiza una alta sensibilidad, especificidad y eficiencia. Una de sus aplicaciones más usadas es para cuantificar cambios muy pequeños en la expresión génica mediante la detección de los niveles del ARNm procedente de células o tejidos (Ibarra, Velasquillo, & Tamay, 2013).

Los ingredientes químicos en la PCR en tiempo real, son los mismos utilizados en la PCR punto final, sólo que generalmente la enzima, dNTP's, Mg⁺, el buffer y el sistema reportero de fluorescencia para detectar los productos amplificados se venden juntos en una solución conocida como «Master mix», el agua es proporcionada por separado y también es libre de nucleasas (Ibarra, et al., 2013).

Los *primers* deben ser diseñados especialmente para garantizar una alta especificidad y para que generen amplicones de un tamaño que oscile entre 100-150 pb; si éstos son más grandes, la eficiencia de la reacción disminuye considerablemente. Para evitar estos problemas, una alternativa es diseñar los *primers*, utilizando programas informáticos disponibles, o comprarlos ya validados de las compañías de biología molecular (Ibarra, et al., 2013).

2.16.3 Técnica PCR tiempo real.

En la actualidad, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction* por sus siglas en inglés) en tiempo real es la técnica más sensible para la detección de ácidos nucleicos (ADN y ARN) (Mullis, 1990).

La PCR en tiempo real es una técnica que combina la amplificación y la detección en un mismo paso, al correlacionar el producto de la PCR de cada uno de los ciclos con una señal de intensidad de fluorescencia. Posee características importantes como alta especificidad, amplio rango de detección (de 1 a 10⁷ equivalentes genómicos de la secuencia blanco) (Brechtbuehl K., 2001) y rapidez en la visualización del producto ya que no es necesario realizar una electroforesis posterior. Los ensayos de la PCR en tiempo real son entre 10,000 y 100,000 veces más sensibles que las pruebas de protección por ARNasa, 1,000 veces más sensibles que la hibridación por *Dot blot* y pueden detectar diferencias de una sola copia del ADN (Wong & Medrano, 2005).

El elemento principal en la PCR es el ADN, cuya naturaleza química ofrece ventajas para su manipulación, es importante recordar que la molécula de ADN está formada por tres componentes: un azúcar (desoxirribosa), un grupo fosfato y una base nitrogenada (adenina, timina, guanina o citosina) que es complementaria con la base de otra cadena de tal forma, que el ADN se estructura en una doble hélice.

La PCR se lleva a cabo en tres etapas principales: desnaturalización, hibridación y extensión (Ibarra, et al., 2013).



Figura 5 Etapas de PCR.

Fuente: (Ibarra, et al., 2013).

Desnaturalización. En esta etapa, las cadenas de ADN son calentadas y separadas a una temperatura de 95 °C durante 20-30 segundos; el tiempo depende de la secuencia del templado, es decir, si la cantidad de G-C es alta, será necesario más tiempo para romper sus uniones debido a que el apareamiento de estas bases está formado por tres enlaces, uno más que las bases de A-T. Además, depende de la velocidad en la que el termociclador aumenta la temperatura, esto varía de acuerdo al modelo del equipo. Al final de esta etapa tendremos las cadenas separadas que servirán como templado para el siguiente paso (Ibarra, et al., 2013, pág. 72).

Hibridación. En esta etapa, los *primers* se alinean al extremo 3' del templado previamente separado e hibridan con su secuencia complementaria. Para que se forme el complejo templado-*primers*, es importante que la temperatura de hibridación o temperatura *melting* (T_m) sea la óptima; ésta generalmente oscila entre 50-60 °C. Si el diseño de los *primers* es el correcto y la temperatura es la

adecuada, la estabilidad y especificidad del complejo será eficiente (Ibarra, et al., 2013, pág. 72).

Extensión. En esta etapa, la Taq polimerasa actúa sobre el complejo templado-*primers* y empieza su función catalítica a una velocidad muy rápida; agrega dNTP's complementarios para crear las cadenas completas de ADN. La extensión de las cadenas es en dirección de la síntesis del ADN, es decir, de 5' a 3'. La temperatura óptima para la reacción es de 72 °C, ya que a esa temperatura la enzima es funcional. Al final del ciclo, se habrán formado los amplicones con un tamaño dictado por el número total de pares de bases (pb) que deberá ser conocido por el investigador (Ibarra, et al., 2013, pág. 73).

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Población/ Muestra/ Muestreo.

Para el presente trabajo de titulación se realizó un estudio caso-control con un total de 80 muestras de mujeres con PE severa (40 casos: arteria, n=20 y vena=20; y 40 controles (arteria, n=20 y vena, n=20) que estaban crio-conservadas en el laboratorio de Biomedicina (Anexo 1).

3.2 Tipo de estudio/ Diseño de investigación.

El presente estudio fue de tipo descriptivo, con un diseño no experimental y de cohorte transversal: (caso/control) que se llevó a cabo en el Instituto de Investigación e Innovación en Salud Integral (noviembre del 2018 a enero del 2019) de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica de Guayaquil utilizando muestras sanguíneas criopreservadas de cordón umbilical (arteria y vena) de mujeres complicadas con PE. El protocolo del estudio fue aprobado previamente por el Comité de Bioética del Hospital Enrique C. Sotomayor, pacientes a quienes se les tomó oportunamente su consentimiento de participación (Anexo 2).

3.3 Métodos y técnicas de recopilación de datos.

Proceso de la muestra

Las muestras almacenadas fueron procesadas en el laboratorio de Biomedicina del Instituto de Investigación e Innovación en Salud Integral, utilizando un kit comercial para extracción del material genético (ADN), el kit *Fast Star DNA*

Master para el gen de estudio y el análisis bioquímico utilizando el sistema de detección Elisa para cada marcador bioquímico.

3.4 Determinación de los marcadores bioquímicos.

La detección y cuantificación de marcadores bioquímicos: el factor de crecimiento placentario (PIGF), la gonadotropina coriónica humana (HCG), la proteína A plasmática asociada al embarazo (PAPP-A), y la homocisteína (HCY) en plasma de vena y arteria de casos y controles se realizó con el sistema de detección mediante ELISA de la casa comercial utilizando su respectivo protocolo del fabricante.

En una microplaca pre-recubierta con anticuerpos de captura, se agregó 50 µl de la muestra homogenizada la cual fue ligada al anticuerpo inmovilizado, luego se procedió a realizar varios lavados para descartar el material no ligado al anticuerpo, luego se agregó el sustrato y de acuerdo a la reacción que generó se leyó la absorbancia a 450 nm.

3.5 Extracción y amplificación del material genético.

Para el proceso de extracción del ADN se procedió a la descongelación de las muestras almacenadas a -45°C, luego se procedió a elaborar una base de datos de todas las muestras crio-conservadas con sus respectivos códigos ya establecidos para cada muestra. El proceso de extracción del material genético se realizó con el kit de extracción *Pure Link Genomic ADN Mini Kit* a partir de sangre periférica (Anexo 3).

Una vez obtenido el material genético, se procedió con la amplificación del polimorfismo del gen COMT (rs4680) mediante la técnica PCR Tiempo real con la ayuda del analizador genético (LightCycler 2.0) con un software adaptado para

utilización en aplicaciones de diagnóstico *in vitro*. La reacción de PCR y la mezcla del mix para la misma fue realizada en tubos eppendorf de 0.5 ml y se procedió a colocar un volumen de 20 ul a cada uno de los capilares de vidrio, la mezcla para PCR se preparó de la siguiente manera: 10.4 ul de agua, 1 ul de *reagent mix* (sonda), 2 ul *FastStar DNA Master*, 1,6 ul de MgCl₂, 3 ul de ADN teniendo como resultado 18 ul (Anexo 4).

Posterior a este estudio se procedió al proceso de amplificación de la variante G>A del gen COMT la cual permitió la amplificación del fragmento estudiado utilizando la técnica de PCR- tiempo real y el protocolo establecido por la casa comercial roche (Anexo 5).

3.6 Análisis estadístico.

Para el presente estudio se procedió a utilizar el paquete estadístico SPSS versión 22.0 (IBM SPSS, Armonk, NY, EEUU) la cual nos permitió realizar la comparación de los cruces de las variables de estudio presentados en medias, medianas, intervalos intercuartílicos, frecuencias y la prueba de chi cuadrado para comparar porcentajes. Cabe recalcar que se consideró un valor de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

RESULTADOS

4.1 Resultados obtenidos

Tabla 1: Datos sociodemográficos.

Parámetros	Casos <i>n</i> =20	Control <i>n</i> =20	valor de <i>p</i> *
Edad	29.5 ± 7.5	29.8 ± 6.0	0.90
Nivel de educación	10.8 ± 3.4	10.0 ± 4.5	0.52
Paridad	2.3 ± 1.9	2.0 ± 1.5	0.52
Residencia rural (%)	3 (15)	2 (10)	0.63
Edad gestacional (semanas)	37.9 ± 1.4	38.5 ± 1.2	0.12
Peso del neonato (g)	2,728.5 ± 562.1	3,101.0 ± 413.5	0.02
Apgar a los 5 min	8.8 ± 0.5	8.5 ± 2.0	0.67
Pequeño para la edad gestacional (%)	4 (20)	4 (20)	0.90
Parto por cesárea(%)	18 (90)	18 (90)	0.90
Presión Sistólica (mmHg)	147.1 ± 18.0	100.0 ± 24.1	<0.001
Presión Diastólica (mmHg)	95.2 ± 18.8	63.1 ± 14.3	<0.001
Peso de la placenta (g)	545.3 ± 136.9	562.5 ± 158.1	0.71

Los datos se presentan como media ± desviaciones estándar o frecuencia (%); * valor *p* después de comparar casos y controles según lo determinado con la prueba T de Student o la prueba de chi cuadrado de acuerdo con cada caso.

Como se observó en la tabla 1 en relación con los casos y controles no hubo diferencias significativas entre los grupos estudiados en cuanto a los datos socio-demográficos. Sin embargo, la presión arterial sistólica y diastólica fue mayor en los casos en comparación con los controles.

Resultados semejantes fueron encontrados por Pacheco, (2006) el autor planteó que en Perú se encuentra una tendencia significativa entre la preeclampsia y la hipertensión arterial. De igual manera Cruz, et al., (2007) especifica que en el embarazo los niveles altos de presión arterial producen un mayor riesgo de padecer preeclampsia, como se demuestra en la tabla 1.

Tabla 2: Niveles de marcadores bioquímicos PIGF, PAPP-A, free β -HCG y homocisteína en cordón umbilical (vena y arteria) casos / controles.

Parámetros bioquímicos	Casos <i>n</i> =20	Control <i>n</i> =20	p value *
PIGF (pg/mL)			
Arteria (n=20)	25.2 [4.2]	36.9 [24.9]	0.002
Vena (n=20)	23.6 [5.5]	33.9 [34.7]	0.04
PAPP-A (mIU/L)			
Arteria (n=20)	1,024.0 [604.7]	720.9 [440.0]	0.01
Vena (n=20)	1,027.0 \pm 298.4	690.3 \pm 401.9	0.004
β -HCG libre (ng/mL)			
Arteria (n=20)	33.9 \pm 4.3	17.2 \pm 4.0	<0.001
Vena (n=20)	30.1 \pm 5.2	13.7 \pm 3.3	<0.001
Homocisteína (umol/L)			
Arteria (n=20)	3.97 \pm 1.7	4.37 \pm 1.23	0.31
Vena (n=20)	4.87 \pm 1.34	4.32 \pm 1.51	0.23

Los datos se presentan como media \pm desviaciones estándar o medianas [rangos intercuartiles];

* valor de p después de comparar casos y controles según lo determinado con la prueba de estudiante T o la prueba U de Mann Whitney de acuerdo con cada caso.

En relación a los marcadores bioquímicos analizados se encontró una diferencia significativa al comparar los casos y controles de la β -HCG libre (vena y arteria), no obstante se encontró una tendencia en PIGF y PAPP-A al realizar la misma comparación. No hubo diferencias en cuanto a los niveles de homocisteína (vena y arteria) entre casos y controles.

De acuerdo con Martínez, (2008) donde indica que las tendencias esperadas de las concentraciones PIGF son estadísticamente menores en gestantes con preeclampsia respecto a gestante que no desarrollan dicha patología. También especifica que los niveles elevados de PAPP-A son utilizados como biomarcador para la predicción temprana de preeclampsia.

Reyna, (2010) realizó un estudio en Caracas-Venezuela en donde plantea que un nivel elevado de β -HCG se asociaban con un mayor riesgo de preeclampsia.

Tabla 3. Frecuencia de las variantes de los polimorfismos del gen COMT (vena) en caso y controles.

Genotipos	PREECLAMPSIA = 20		CONTROL = 20		valor de <i>p</i> *
	Frecuencia genotípica	Frecuencia Alélica	Frecuencia genotípica	Frecuencia Alélica	
COMT (G/A)					
GG	6 (30%)	G=60%	6 (30%)	G=57.5%	
GA	12 (60%)		11 (55%)		0.24
AA	2 (10%)	A=40%	3 (15%)	A=42.5%	

* Valor de *p* según lo determinado por la prueba de chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher cuando se compara la frecuencia del genotipo de los casos con los controles.

En la Tabla 3 se presenta la frecuencia de los genotipos del polimorfismo del gen COMT (vena) en caso y controles. En cuanto al polimorfismo del gen COMT, no hubo diferencias en cuanto a la variante mutada AA (10% casos vs 15% controles).

Estudios realizados por Roten, et al., (2011) en Noruega confirmo que existe una significancia al hacer la relación entre el polimorfismo rs4680 del gen COMT; otro estudio realizado en China afirma que en un estudio de caso control de pacientes con PE el genotipo AA (mutado) fue significativamente mayor en los casos que en el grupo control, sin embargo, en nuestro estudio no se demostró significancia debido al tamaño de la población.

Tabla 4. Frecuencia de las variantes del polimorfismo del COMT (arteria) en caso y controles.

Genotipos	PREECLAMPSIA		CONTROL		valor de <i>p</i> *
	Frecuencia genotípica	Frecuencia Alélica	Frecuencia genotípica	Frecuencia Alélica	
COMT (G/A)					
GG	5 (30%)	G=60%	7 (30%)	G=57.5%	0.48
GA	14 (60%)		12 (55%)		
AA	1 (10%)	A=40%	1 (15%)	A=42.5%	

* Valor de *p* según lo determinado por la prueba del chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher cuando se compara la frecuencia del genotipo de los casos con los controles.

En la tabla 4 hace referencia a la frecuencia de las variantes del polimorfismo del COMT (arteria) en caso y controles en donde se observó una tendencia similar encontrada en la tabla 3.

Tabla 5. Niveles de PIGF, PAPP-A, β -HCG libre y HCY de acuerdo a las variantes del polimorfismo COMT en vena y arteria umbilical.

	PREECLAMPSIA			CONTROL		
	n=20			n=20		
	GG	GA	AA	GG	GA	AA
	n=6	n=12	n=2	n=6	n=11	n=3
PIGF (pg/mL)	27.2 \pm 5.3	23.4 \pm 2.6	25.1	36.2 \pm 24.6	41.7 \pm 23.7	46.8 \pm 23
PAPP-A (pg/mL)	883.9 \pm 191.1	1092.3 \pm 345.5	1068,9 \pm 137.3	917.7 \pm 530.3	637.9 \pm 328.4	427.6 \pm 136.3
β-HCG (pg/mL)	28.3 \pm 3.1	32.1 \pm 5.1	23.69 \pm 6	11.9 \pm 2.6	14.5 \pm 2.8	14.2 \pm 5.9
HCY (pg/mL)	5.4 \pm 0.8	4.7 \pm 1.6	4.3 \pm 1	4.8 \pm 2.4	4.2 \pm 1.1	4.0 \pm 1

Los datos están presentados como medias \pm desviaciones estándares. Las diferencias entre grupos se midieron con ANOVA.

La tabla número 5 hace referencia a la relación entre la variante AA polimorfismo del gen COMT y los marcadores bioquímicos en donde se puede observar que existe una diferencia al relacionar los casos y los controles de la β -HCG libre, el cual fue significativo como marcador bioquímico, respecto al número de muestra

El factor genético puede permitir identificar de manera temprana y oportuna el desarrollo de la patología en diferentes poblaciones estudiadas. De igual manera hay estudios en los que el genoma juega un papel muy importante vinculado con el inicio de la enfermedad, independientemente de la fuente de la cual es transmitido pese a la información obtenida. En nuestro estudio se observó que la frecuencia del genotipo mutado (AA) en vena fue de: casos 10 % y controles del 15 % obteniendo los mismos resultados en arteria.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

5.1 Conclusiones.

1. Los marcadores bioquímicos investigados (PIGF, PAPP-A) demostraron una tendencia a cumplir con los niveles establecidos con la literatura a diferencia de la β -GCH que si marco una diferencia significativa reconociendo este marcador como predictor de la preeclampsia a excepción de la homocisteína en relación con el número de muestra, en donde no fue significativo en nuestra población como predictor de esta patología.
2. Se determinó la presencia del polimorfismo en casos y controles en la población estudiada sin obtener una significancia entre el polimorfismo rs4680 del gen COMT y los marcadores analizados posiblemente debido al tamaño muestral.
3. La PE es una patología de origen multifactorial entre los que se encuentran el factor genético con una serie de posibles genes candidatos sumado a la interacción del medio ambiente que interviene en la expresión del mismo ya que en conjunto estarían involucrados en la génesis de la patología, las posibles variaciones génicas jugarían un rol importante en este gen COMT, así como los diferentes marcadores bioquímicos considerados también como un factor de riesgo.

1.2 Recomendaciones.

1. Se recomienda continuar con la investigación con la finalidad de desarrollar nuevos métodos de diagnóstico que puedan predecir la preeclampsia.
2. Es importante que en estudios posteriores se aumente el tamaño muestral incluyendo muestras paternas debido a que se ha demostrado que influye en la inducción de preeclampsia.
3. Ampliar el estudio con otros genes (MTHFR, ACE, GAL-1, PSG11) que involucren polimorfismos vinculados al desarrollo de la preeclampsia en nuestra población.

ANEXOS

Anexo 1 base de datos de muestras para extracción de ADN

BASE DE DATOS						
Codigo	CANTIDAD		MARCADORES	EXT. DNA	PCR	HINF I
	CELULAS	SUERO	HOMOCISTEINA			
CASOS VENA						
000-1	200ul	1	1	1	1	1
000-2	200ul	1	1	1	1	1
000-3	200ul	1	1	1	1	1
000-4	200ul	1	1	1	1	1
000-5	200ul	1	1	1	1	1
000-6	200ul	1	1	1	1	1
000-7	200ul	1	1	1	1	1
000-8	200ul	1	1	1	1	1
000-9	200ul	1	1	1	1	1
000-10	200ul	1	1	1	1	1
000-11	200ul	1	1	1	1	1
000-12	200ul	1	1	1	1	1
000-13	200ul	1	1	1	1	1
000-14	200ul	1	1	1	1	1
000-15	200ul	1	1	1	1	1
000-16	200ul	1	1	1	1	1
000-17	200ul	1	1	1	1	1
000-18	200ul	1	1	1	1	1
000-19	200ul	1	1	1	1	1
000-20	200ul	1	1	1	1	1
000-21	200ul	1	1	1	1	1
000-22	200ul	1	1	1	1	1
000-23	200ul	1	1	1	1	1
000-24	200ul	1	1	1	1	1
000-25	200ul	1	1	1	1	1
000-26	200ul	1	1	1	1	1
CASOS ARTERIA						
000-1	200ul	1	1	1	1	1
000-2	200ul	1	1	1	1	1
000-3	200ul	1	1	1	1	1
000-4	200ul	1	1	1	1	1
000-5	200ul	1	1	1	1	1
000-6	200ul	1	1	1	1	1
000-7	200ul	1	1	1	1	1
000-8	200ul	1	1	1	1	1
000-9	200ul	1	1	1	1	1
000-10	200ul	1	1	1	1	1
000-11	200ul	1	1	1	1	1
000-12	200ul	1	1	1	1	1
000-13	200ul	1	1	1	1	1
000-14	200ul	1	1	1	1	1
000-15	200ul	1	1	1	1	1
000-16	200ul	1	1	1	1	1
000-17	200ul	1	1	1	1	1
000-18	200ul	1	1	1	1	1
000-19	200ul	1	1	1	1	1
000-20	200ul	1	1	1	1	1
000-21	200ul	1	1	1	1	1
000-22	200ul	1	1	1	1	1
000-23	200ul	1	1	1	1	1
000-24	200ul	1	1	1	1	1
000-25	200ul	1	1	1	1	1
CONTROL VENA						
000-1	200ul	1	1	1	1	1
000-2	200ul	1	1	1	1	1
000-3	200ul	1	1	1	1	1
000-4	200ul	1	1	1	1	1
000-5	200ul	1	1	1	1	1
000-6	200ul	1	1	1	1	1
000-7	200ul	1	1	1	1	1
000-8	200ul	1	1	1	1	1

* 000-9	200ul	1	1	1	1	1
000-10	200ul	1	1	1	1	1
000-11	200ul	1	1	1	1	1
000-12	200ul	1	1	1	1	1
000-13	200ul	1	1	1	1	1
000-14	200ul	1	1	1	1	1
000-15	200ul	1	1	1	1	1
000-16	200ul	1	1	1	1	1
000-17	200ul	1	1	1	1	1
000-18	200ul	1	1	1	1	1
000-19	200ul	1	1	1	1	1
000-20	200ul	1	1	1	1	1
000-21	200ul	1	1	1	1	1
000-22	200ul	1	1	1	1	1
000-23	200ul	1	1	1	1	1
000-24	200ul	1	1	1	1	1
000-25	200ul	1	1	1	1	1
* 000-26	200ul	1	1	1	1	1
* 000-27	200ul	1	1	1	1	1
* 000-28	200ul	1	1	1	1	1
CONTROL ARTERIA						
000-1	200ul	1	1	1	1	1
000-2	200ul	1	1	1	1	1
000-3	200ul	1	1	1	1	1
000-4	200ul	1	1	1	1	1
000-5	200ul	1	1	1	1	1
* 000-6	200ul	1	1	1	1	1
000-7	200ul	1	1	1	1	1
000-8	200ul	1	1	1	1	1
000-9	200ul	1	1	1	1	1
000-10	200ul	1	1	1	1	1
000-11	200ul	1	1	1	1	1
000-12	200ul	1	1	1	1	1
000-13	200ul	1	1	1	1	1
000-14	200ul	1	1	1	1	1
* 000-15	200ul	1	1	1	1	1
000-16	200ul	1	1	1	1	1
000-17	200ul	1	1	1	1	1
000-18	200ul	1	1	1	1	1
000-19	200ul	1	1	1	1	1
000-20	200ul	1	1	1	1	1
000-21	200ul	1	1	1	1	1
000-22	200ul	1	1	1	1	1
000-23	200ul	1	1	1	1	1
000-24	200ul	1	1	1	1	1
000-25	200ul	1	1	1	1	1
000-26	200ul	1	1	1	1	1
* 000-27	200ul	1	1	1	1	1
* 000-28	200ul	1	1	1	1	1

Anexo 3 técnica de extracción de ADN

Inserto obtenido de la casa comercial de Roche.

Técnica de procedimiento:

Para la obtención del material genético se utilizó el siguiente protocolo de la casa comercial *Pure Link Genomic Wash Buffer*.

Protocolo de ADN:

- 1.- Calentar el bloque térmico a 55°C.
- 2.- Al tubo esteril adicionar <200 ul de sangre.
- 3.- Adicionar 20ul de Proteinasa K a la muestra.
- 4.- Adicionar 20ul RNase A a la muestra, mezcle bien vortexeando brevemente e incube a temperatura ambiente por 2 minutos.
- 5.- Adicionar 200ul del Buffer de Lisis/ Binding, vortexeando bien para obtener una solución homogénea.
- 6.- Incubar a 55°C por 10 minutos para promover la digestión de proteínas.
7. - Adicionar 200 ul de ethanol (96 – 100%) para lisar. Mezcle bien por vortex por 5 segundos para que rinda una solución homogénea.
- 8.- Proceder inmediatamente a la captura del ADN.

ANTES DE EMPEZAR

Adicionar ethanol 96–100% ethanol *al PureLink® Genomic Wash Buffer 1 and PureLink® Genomic Wash Buffer 2* de acuerdo a las indicaciones marcadas en cada etiqueta. Marcar las etiquetas cuando ya ha sido adicionado el ethanol. Guardar ambos Buffer a temperatura ambiente.

- 9.- Remover del paquete de tubos 1 columna
- 10.- Adicionar el lisado (640ul) en la columna
- 11.- Centrifugar la columna a 10.000 x g por 1 minuto a temperatura ambiente.
- 12.- Descartar el tubo de colección y colocar un tubo de colección limpio.
- 13.- Proceder a enjuagar el ADN.

LAVADO DE ADN

- 14.- Adicionar 500ul de Buffer Wash 1, preparado con ethanol a la columna.
15. Centrifugar la columna a temperatura ambiente a 10.000 x g por 1 minuto.
16. Descartar el tubo de colección y colocar un tubo limpio.
17. Adicionar 500 µL Wash Buffer 2 preparado con ethanol a la columna.
- 18.-Centrifugar la columna a la velocidad máxima por 3 minutos a temperatura ambiente. Descartar el tubo de colección
19. Proceder a la elución del ADN.

ELUCIÓN DE ADN

20. Coloque la columna en un tubo estéril de microcentrífuga de 1.5ml.
21. Adicione 25–200 µL of *PureLink® Genomic Elution Buffer* a la columna. Observe los parámetros de elución (page 13) para elegir el adecuado volumen de elución que se necesita.
22. Incubar a temperatura ambiente por 1 minuto. Centrifugar la columna a máxima velocidad por 1 minuto a temperatura ambiente. El tubo contiene el ADN genómico purificado.

23. Para recuperar más ADN, realice un Segundo paso de elusión usando el mismo volumen de buffer de elusión como la primera vez en otro tubo estéril de 1.5ml.

24. Centrifugar la columna a máxima potencia por 1.5 minutos a temperatura ambiente. El tubo contiene el ADN purificado. Descartar la columna.

ALMACENAJE DEL ADN

Guardar el ADN purificado a -20°C para la aplicación deseada.

Anexo 4

Condiciones de la mezcla para el PRE-MIX de PCR

Preparación de la reacción	Ajustes
20 ul de mezcla de la reacción.	LightCycler 1.x & 2.0 instrumentos
H₂O 14.4 – 10.4 ul	
Reagent Mix 1.0 ul	LightCycler 1. X Instrumento: canal F1
FastStart ADN Master 2.0 ul	LightCycler 2.0 Instrumento: canal 530
MgCl₂ (25 mM) 1.6 ul	
ADN 1.0 – 5.0 ul (- 50 mg)	
Concentración final MgCl₂: 3.0 Mm	

LightCycler FastStart ADN Master HybProbe (Dignóstico Roche)

Elaborado por: Palma & Reyes 2018.

Anexo 5

Programa LightCycler 1.x / 2.0 Instrumentos

Programa	Desnaturalización	Cicling			Melting			cooling
Parámetro								
Modo de análisis	None	Quantification			Melting Curves			None
Ciclos	1	45			1			1
Segment	1	1	2	3	1	2	3	1
Target (°C)	95	95	60	72	95	40	85	40
Retener (hh: mm: ss)	0:10:00	00:00:10	00:00:15	00:00:20	00:00:20	00:00:20	00:00:00	0:00:30
Ramp rate (°C/s)	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	0.2	20.0
Modo de adquisición	None	None	Single	None	None	None	Continuous	None

LightCycler FastStart ADN Master HybProbe (Dignóstico Roche)

Elaborado por: Palma & Reyes 2018.

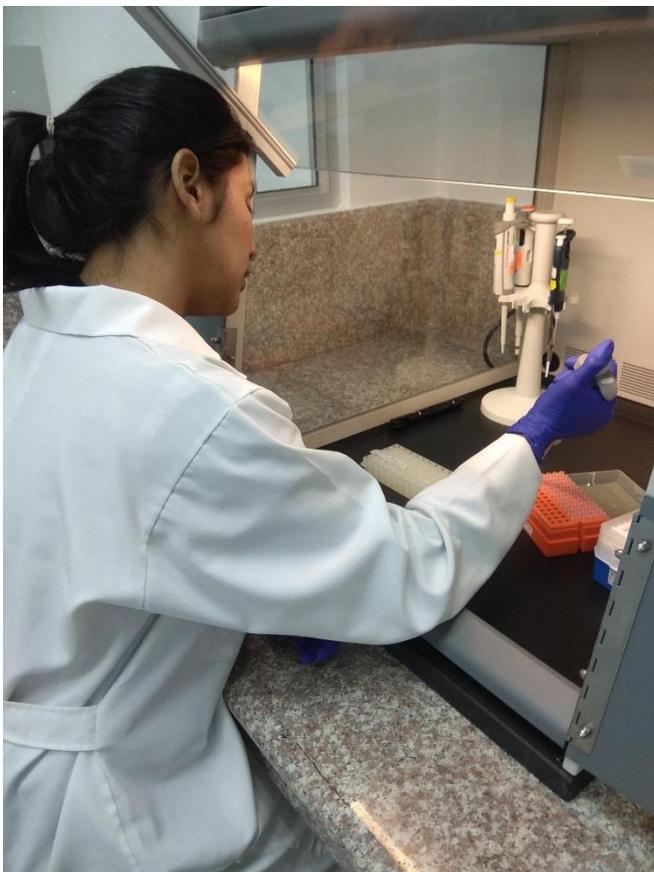
ANEXO 6

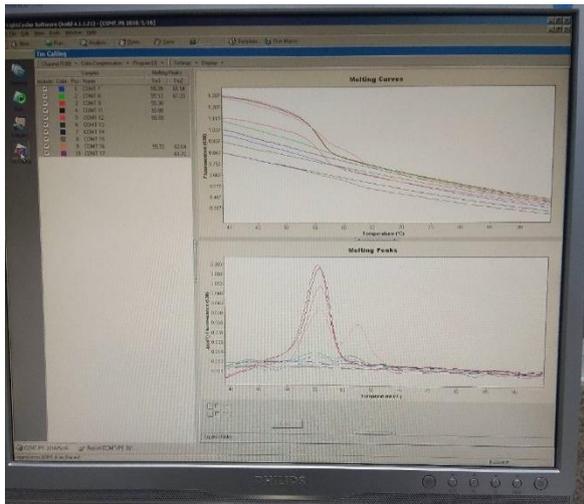


Muestras de ADN (Figura 6)



Materiales de PCR(Figura 7)





Resultados del equipo. (Figura 12)

BIBLIOGRAFÍA

- Alcoceba Sánchez, M. (2010). *Universidad de Salamanca*.
- American pregnancy. (Agosto de 2015). *American pregnancy*. Obtenido de <http://americanpregnancy.org/es/pregnancy-complications/preeclampsia/>
- Anónimo. (2017). Conceptos básicos para introducirte en el mundo de la Genética. *Revista Genética Médica*.
- Arenas, D., & Mesa, C. (2008). Genetica de la Preeclampsia. *Redalyc*, 22(2), 57-67.
- Avena, J., Joerin, Veronica, Dozdor, L., & Bres, S. (2007). *Maternoinfantil* .
- Azpitarte, D. (2013). *Servicios asistenciales ginecologica y obstetricia*.
- Berzaín Rodriguez, M. C., & Caamacho Terceros, L. A. (2015). Una mirada clinica al diagnostico de preeclampsia. *Revista Científica Ciencia Médica*, 18(1), 50-55.
- Brechtbuehl K., S. A. (2001). A rapid realtime quantitative polymerase chain reaction for hepatitis B virus. *Journal of Virological Methods* (93), 105-113.
- Brown, T. (2007). Estudio de los Genomas. En Brown, *Genomas* . Buenos aires : Medica Panamericana .
- Camacho, L., & Berzain, C. (2015). Una mirada clínica al diagnóstico de preeclampsia. *Revista Científica Ciencia Médica Scielo*, 18(1), 50-55.
- Checa Caratachea, M. A. (2007). Polimorfismos genéticos: importancia y aplicaciones. *Revista del Instituto Nacional de enfermedades respiratorias.*, 20(3), 213-221.
- Conde, A., Belizan, J., & Lammers, C. (Mayo de 2014). *Preeclampsy foundation*. Obtenido de <https://www.preeclampsia.org/es/informacion-de-salud/149->

advocacy-awareness/332-preeclampsia-and-maternal-mortality-a-global-burden

Cruz, J., Pilar, H., Yanes, M., & Isla, A. (2007). Factores de riesgo de preeclampsia: enfoque inmunoendocrino. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 23(4), 9-23.

Dulay, A. (2012). *Manual MSD*.

Embarazo. (Abril de 2017). *El embarazo.net*. Obtenido de <https://elembarazo.net/los-tipos-de-preeclampsia-durante-el-embarazo-y-el-postparto.html>

Herráez, Á. (2012). *Biología molecular e ingeniería genética* (2da ed.). Barcelona, España: Elsevier .

Huerta, D., Acosta, O., Polo, S., Martínez , R., Oré, R., & Miranda , C. (2007). Polimorfismo Val108/158Met en el gen dopaminérgico catecolo-metil transferasa (COMT) en una población mixta peruana y su importancia para los estudios neuropsiquiátricos. *Scielo*, 68(4), 321-327.

Huertas, E. (2006). Aspectos preventivos de preeclampsia . *Revista Peruana de Ginecología Obstetra (Redalyc)*, 52(4), 226-228.

Ibarra, C., Velasquillo, C., & Tamay. (Abril de 2013). *Medigraphic Literatura Biomdica*.

Jimenez, & Martinez. (2013). *Scielo*. Obtenido de http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75262013000200014

Jiménez, E., Martínez, L., & Vargas, N. (2013). Preeclampsia: la evolución diagnóstica desde la genómica y la proteómica. *Revista Chilena de Obstetricia Ginecologica* , 78(2), 148-153. Obtenido de <http://www.revistasochog.cl/articulos/ver/625>

- Jin Hyae , L., Young, k., Do Jin, K., Park, S., Han, H., & Lee, S. (2010). Genetic polymorphism of catechol-O-methyltransferase and cytochrome P450c17 in preeclampsia. *Pharmacogenetics and Genomics*, 20(10), 605-610.
- Lagos, A., Arriagada, J., & Iglesias. (2013). Fisiopatología de la preeclampsia. *Revista de Obstetricia y Ginecología* , 8, 157-160.
- Liang, S., Fan, P., Liu, R., & Zhang, J. (2012). Association Between Val158Met Functional Polymorphism in the COMT Gene and Risk of Preeclampsia in a Chinese Population. *Archives of Medical Research* , 43(2), 154-158. Obtenido de <https://www.clinicalkey.es#!/content/playContent/1-s2.0-S0188440912000495?returnurl=http:%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0188440912000495%3Fshowall%3Dtrue&referrer=https:%2F%2Fwww.ncbi.nlm.nih.gov%2F>
- Luque, J., & Herràez, A. (2006). *Biología molecular e Ingeniería genética*. Madrid, España: Elsevier.
- Martinez, A. (2008). *AEFA*.
- MSP. (Octubre de 2013). *Ministerio de Salud Publica*.
- Mullis, K. B. (1990). The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Scientific American*(262), 56-61.
- Nessinen, E. (2007). *International Review of Neurobiology* (Vol. 95). Filandia: Orion Corporation.
- Noroña, C. (2014). Pre-eclampsia: Biochemical Markers Age. *Revista Científica Ciencia Médica*, 17(2), 32-38. Obtenido de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1817-74332014000200008
- Pacheco Romero, J., Huerta, D., Cabrera, S., & Acosta, O. (2013). Polimorfismo en el gen COMT en una muestra de gestantes normales y con restricción del crecimiento intrauterino en un hospital de Lima. *Redalyc*, 74(2), 129-132.

- Pacheco, J. (Mayo de 2006). Preeclampsia/eclampsia: Reto para el ginecoobstetra. *Scielo Perú*, 23(2), 100-110.
- Pelayo Terán, J. M. (2010). *Universidad de Cantabria*.
- Pertegal, M. (2015). Obtenido de file:///C:/Users/FAMILIA%20PALMA/Downloads/TESIS%20UNIVERSIDAD%20FINAL.pdf
- Piedrahita, A., & Agudelo, B. (2010). Preeclampsia: un problema complejo para enfrentar desde su fisiología. *16*(11-12), 547-560.
- Radulesco, C., Gabor, R., & Bacarea, A. (2016). *NCBI*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5069373/>
- Redman, C. (1995). *La placenta humana*. Barcelona, España: Masson.
- Reina, & Mejia. (julio de 2012). *Elsevier*. Obtenido de <http://www.elsevier.es/es-revista-clinica-e-investigacion-ginecologia-obstetricia-7-articulo-concentraciones-interleucina-6-preeclampticas-embarazadas-normotensas-S0210573X0900238X#bib0055>
- Reyna, E. (2010). Marcadores bioquímicos para la predicción de la preeclampsia. *Revista de Obstetricia y ginecología de Venezuela*, 70(1), 24-28. Obtenido de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0048-77322010000100010&script=sci_arttext
- Romero, Gómez, Kusanovic, & Eaves. (2011). *NCBI*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21304959>
- Roten, L., Johnson, M., & Moses, E. (25 de Febrero de 2011). *NCBI*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3116680/>
- Sanchez, S. (2006). EPIDEMIOLOGÍA DE LA PREECLAMPSIA. *Revista Peruana de Ginecología*, 52(4), 213-218. Obtenido de <http://www.redalyc.org/html/3234/323428182004/>
- Santos, L. (2011). *El parto es nuestro*. (J. o. Association, Editor)

- Solange, V. (Mayo de 2013). *Scielo*. Obtenido de http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682013000400003&script=sci_arttext
- Valderrama, A., Gallo, D., & Cifuentes, R. (2011). CUÁLES SON LOS AVANCES DE LA GENÓMICA Y LA PROTEÓMICA EN EL TAMIZAJE Y/O PREDICCIÓN DE LA PREECLAMPSIA? *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 62(1), 64-70.
- Vargas, M., Acosta, G., & Moreno, M. (2012). *Revista Chilena de Obstetricia y ginecología* . 77(6), 471-476.
- willians, & Morgan. (20 de ENERO de 2012). *NBCI*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3513227/>
- Wong, & Medrano. (Julio de 2005). Real-time PCR for mRNA quantitation. *BioTechniques*(39), 75-85.