

















Marcadores genéticos de preeclampsia en mujeres peruanas

Genetic markers for preeclampsia in Peruvian women

José Pacheco-Romero^{1*}  Oscar Acosta Conchucos^{2*}  Doris Huerta Canales¹ 
Santiago Cabrera Ramos¹  Marlene Vargas Chávez¹  Pedro Mascaro Sánchez¹ 
Moisés Huamán Guerrero¹  José Sandoval Paredes¹  Rudy López Gabriel¹  Julio Mateus^{1,3}  Enrique Gil Guevara¹  Enrique Guevara Rios¹  Nitzza Butrica Ferré¹ 
 Diana Catari Soto¹  David Bellido Yarlequé¹  Gina Custodio González¹ Andrea Naranjo Adonaire¹

jpachecor@unmsm.edu.pe



ACCESO ABIERTO

Citación: Pacheco-Romero, J., Acosta Conchucos, O., Huerta Canales, D., Cabrera Ramos, S., Vargas Chávez, M., Mascaro Sánchez, P., Huamán Guerrero, M., Sandoval Paredes, J., López Gabriel, R., Mateus, J., Gil Guevara E., Guevara Rios E., Butrica Ferré, N., Catari Soto, D., Bellido Yarlequé, D., Custodio Gonzales, G., & Naranjo Adonaire, A. **Marcadores genéticos de preeclampsia en mujeres peruanas.** Colombia Médica. (Cali). Colomb Med 2021; 52(1):e2014437 <http://doi.org/10.25100/cm.v52i1.4437>

Recibido : 07 Jul 2020

Revisado : 13 Oct 2020

Aceptado : 28 Ene 2021

Publicado: 26 Feb 2021

Palabras clave:

Proteína FLT1 humana; Receptor 1 del factor de crecimiento endotelial vascular; Interleucina 6; Trofoblasto; Factor de crecimiento endotelial vascular; Pre-eclampsia, Muerte materna; Leptina; Mujeres embarazadas; Agentes inductores de angiogénesis; Apolipoproteína A-1; Endotelina 1; Factor de crecimiento placentario.

Keywords:

FLT1 protein, human; Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1; Interleukin-6; Trophoblasts; Vascular Endothelial Growth Factor A; Pre-Eclampsia; Maternal Death; Leptin; Pregnant Women; Angiogenesis Inducing Agents; Apolipoprotein A-1; Endothelin-1; Placenta Growth Factor.

1 Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Faculty of Medicine. Medicina y Genética Molecular Materno Perinatal-MEGEMAPE Research Group, Lima, Peru. **2** Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Lima, Peru. **3** Atrium Health, Charlotte, North Carolina, USA

* Estos autores tuvieron la misma contribución en este artículo.

Resumen

Antecedentes:

La preeclampsia es un trastorno multiorgánico asociado con la morbi-mortalidad materna y perinatal. En el Perú, su incidencia es del 10% y causa el 22% de las muertes maternas. Se encontró una asociación entre la preeclampsia y ciertos polimorfismos.

Objetivo:

Determinar asociación entre los polimorfismos genéticos del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) +936 C/T y +405 G/C, interleucina-6 (IL-6) -174G/C, IL-1 β -511 C/T, Apo A-1 -75 G/A, Apo B-100 2488 C/T (XbaI), y preeclampsia en gestantes peruanas.

Métodos:

Se incluyeron gestantes preeclámpticas y sanas (controles). Las muestras de sangre fueron procesadas para extracción del ADN, y el análisis se realizó con la técnica PCR-RFLP con protocolos específicos para cada gen y confirmación con secuenciamiento Sanger. Se compararon las frecuencias alélicas y genotípicas en los casos (preeclampsia) y los controles.

Resultados:

No se halló asociación entre los polimorfismos VEGF+936-C/T y VEGF+405 y la preeclampsia. Las frecuencias de los genotipos GG y el alelo G del polimorfismo -174-G/C en el gen IL6 en preeclámpticas y controles, mostraron diferencias significativas, con frecuencias más altas en los casos. Para el polimorfismo -511-C/T del gen IL-1 β , no se encontraron diferencias significativas en las frecuencias de genotipos TT comparados con CT+CC. Los genotipos y alelos de las variantes Apo-A1-75-G/A y Apo-B100 XbaI no mostraron diferencias significativas entre los grupos

Copyright: © 2021 Universidad del Valle.



Conflicto de intereses:

Los autores declaran que el estudio no tener conflicto de interés.

Financiación:

Los autores recibieron financiamiento de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos como parte de subvenciones del 2012 al 2017 del Vicerrectorado de Investigación

Autor de correspondencia:

José Pacheco-Romero, MD, MSc, PhD, FACOG. Faculty of Medicine, Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima, Peru. Phone: 51 1 372 3555 - Cell: 51 1 999 481 979. **Email:** jpachecor@unmsm.edu.pe

Conclusión:

No se encontró asociación entre los marcadores genéticos estudiados y la preeclampsia. Sin embargo, el polimorfismo -174-G/C en el gen IL6 mostró diferencias significativas principalmente en el genotipo GG y el alelo G.

Abstract

Background:

Preeclampsia is a multiorgan disorder associated with maternal and perinatal morbidity. In Peru, incidence is 10% and accounts for 22% of maternal deaths. Genome and genetic epidemiological studies have found an association between preeclampsia and genetic polymorphisms.

Objective:

To determine the association of the vascular endothelial growth factor (VEGF) +936 C/T and +405 G/C, interleukine-6 (IL-6) -174 G/C, IL-1 β -511 C/T, Apo A-1-75 G/A, Apo B-100 2488 C/T (XbaI) polymorphisms with preeclampsia in pregnant Peruvian women.

Methods:

Were included preeclamptic and healthy (control) pregnant women. Maternal blood samples were subjected to DNA extraction, and molecular genetic analysis was conducted using the PCR-RFLP technique and following a specific protocol for each gene. Allele and genotypic frequencies in the cases and controls were compared.

Results:

No association was found between the VEGF+936C/T and VEGF+405 polymorphisms and preeclampsia. The frequencies of the GG genotypes and the G allele of the -174 G/C polymorphism in the IL6 gene in preeclamptic and controls showed significant differences, with higher frequencies in cases. For the -511 C/T polymorphism of the IL-1 β gene, no significant differences were found in the frequencies of TT genotypes compared with CT+CC. The genotypes and alleles of the Apo-A1-75 G/A and Apo-B100 XbaI variants showed no significant differences between cases and controls.

Conclusion:

No association was found between the studied genetic markers and preeclampsia. However, in the -174G/C polymorphism of the IL-6 gene, significant differences were found mainly in the GG genotype and G allele.

Contribución del estudio

1) ¿Por qué se realizó este estudio?

La preeclampsia es un trastorno multiorgánico que se asocia de modo significativo con la morbimortalidad materna y perinatal. La preeclampsia se define como la presencia de hipertensión de novo y proteinuria en mujeres con al menos 20 semanas de embarazo. La etiología de la preeclampsia sigue siendo desconocida; su presentación clínica y su dinámica varían, y ningún método puede predecir su aparición. En Perú, la incidencia de la preeclampsia es alrededor del 10%, y causa el 22% de las muertes maternas. Los estudios epidemiológicos genómicos y genéticos han encontrado una asociación entre la preeclampsia y ciertos polimorfismos y variantes. En este estudio, se ha evaluado los polimorfismos en genes relacionados con la función endotelial, la angiogénesis, los procesos inmunológicos e inflamatorios y el síndrome metabólico en mujeres preeclámplicas peruanas.

2) ¿Cuáles fueron los resultados más relevantes del estudio?

No se encontró asociación entre los marcadores genéticos estudiados y la preeclampsia. Sin embargo, en el polimorfismo -174G/C en el gen IL6, se hallaron diferencias significativas principalmente en el genotipo GG y el alelo G, en los que las frecuencias fueron mayores en los casos que en los controles.

3) ¿Qué aportan estos resultados?

El presente estudio contribuye a nuestro conocimiento de los factores genéticos asociados a la preeclampsia, un tema de investigación emergente en el Perú. La ancestría genética y otros factores pueden explicar parcialmente los hallazgos para la población peruana.

Introducción

La hipertensión es la complicación médica más frecuente del embarazo ¹, y la presentación clínica más grave de los trastornos hipertensivos del embarazo es la preeclampsia, una condición que se asocia de modo significativo con la morbilidad y mortalidad materna y perinatal.

La preeclampsia es la principal causa de muerte materna en el mundo occidental. Se trata de un trastorno multiorgánico que implica la ocurrencia de hipertensión de aparición *de novo* (>140/90 mmHg) y proteinuria en mujeres con al menos 20 semanas de embarazo ². La presentación clínica y la dinámica de la preeclampsia son variables; por ejemplo, no siempre se encuentra la hipertensión y la proteinuria ³. Cuando no se presenta la proteinuria, el diagnóstico de preeclampsia se basa en la aparición de hipertensión acompañada de un recuento bajo de plaquetas (por debajo de 100,000/mL), alteración de la función hepática (indicada por niveles séricos de transaminasas del doble de las concentraciones normales), insuficiencia renal (señalada por niveles séricos de creatinina superiores a 1,1 mg/dL o por niveles séricos de creatinina del doble de los presentes en la función renal normal), edema pulmonar o presentación *de novo* de alteraciones cerebrales o visuales ².

La preeclampsia afecta a 3 a 8% de las mujeres embarazadas, dependiendo de la población y la región en estudio y de la definición de preeclampsia que se utilice ^{4,5}. En Perú, la incidencia de preeclampsia es más del 10% en varias regiones ³ y causa el 22% de las muertes maternas.

Los factores comunes asociados al desarrollo de la preeclampsia en los países desarrollados son la obesidad, la resistencia a la insulina y la hiperlipidemia, mientras que en los países en vías de desarrollo los factores asociados son la procedencia étnica, los malos hábitos nutricionales, las infecciones subclínicas y otras características socioeconómicas ⁶.

La etiología de la preeclampsia todavía se desconoce. Sin embargo, se ha descubierto que factores genéticos provocan una adaptación inmunitaria defectuosa⁷, que conduce a la invasión inadecuada del trofoblasto y al desarrollo inapropiado de la placenta. La infiltración anormal del citotrofoblasto endometrial genera trastornos arteriales, como la pérdida de elasticidad que afecta la remodelación vascular y perjudica el suministro de sangre al feto^{8,9}. Como resultado, se desarrollan isquemia e hipoxia placentarias, así como estrés oxidativo y endoteliosis⁶, que comprometen la placenta e importantes órganos y sistemas maternos. El estrés oxidativo estimula al sincitiotrofoblasto a liberar citoquinas proinflamatorias, exosomas, factores antiangiogénicos y ADN fetal libre en la circulación materna^{4,10}.

Las complicaciones pueden surgir en cualquier momento del embarazo, con frecuencia de forma subrepticia y grave. Antes del desarrollo clínico de la enfermedad, se produce vasoespasmo, se activa la cascada de coagulación y se reduce el volumen plasmático. Los efectos son más perjudiciales cuando la preeclampsia aparece de forma precoz, y de esta forma se produce una restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) y se puede ocasionar prematuridad³.

Además, se acelera la senescencia de la placenta¹¹, aumenta en sangre materna la concentración de citoquinas proinflamatorias, ADN fetal libre, leptina, restos apoptóticos de la placenta y tirosina quinasa soluble tipo fms (sFLT1), mientras disminuyen los niveles del factor de crecimiento placentario (PIGF)¹².

No existe método que pueda predecir la aparición de la preeclampsia, y no hay cura para esta afección, salvo el nacimiento del feto y la placenta. La preeclampsia suele resolverse poco después del parto. Sin embargo, los estudios epidemiológicos asocian a la preeclampsia con trastornos metabólicos, cardiovasculares y cerebrales^{2,13-15} que aparecerán más tarde en la madre y el niño y, en perspectiva, pueden tener gran impacto en la discapacidad y el gasto en salud pública¹⁵⁻¹⁷.

Los estudios de epidemiología genómica y genética han encontrado una asociación entre la preeclampsia y ciertos genes^{7,18}, polimorfismos y otros marcadores moleculares e inflamatorios^{7,8,19,20}. Por lo tanto, la detección de estos biomarcadores en una fase temprana de la gestación nos permitirá predecir y manejar adecuadamente la preeclampsia.

En la placenta se producen varias proteínas pro y antiangiogénicas desde el inicio del embarazo; estas sustancias desempeñan un papel en la disfunción endotelial y el riesgo de presentación de la preeclampsia^{9,20}. Los factores angiogénicos más importantes^{21,22} son el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)²² y el factor de crecimiento placentario (PGF)²³. Las sustancias antiangiogénicas se expresan abundantemente en la preeclampsia y causan disfunción y daño en las células endoteliales maternas^{1,3,24}, lo que tiene consecuencias negativas para la madre y el feto. Los genes que codifican los factores antiangiogénicos importantes incluyen el gen del factor soluble similar a la tirosinasa (sFLT-1), el gen del VEGF tirosina quinasa soluble similar al Fms-1 (VEGFR-1)²⁵ y los polimorfismos del gen de la endotelina-1^{26,27}.

Debido a la alta prevalencia de preeclampsia en el Perú y considerando que el estrés oxidativo induce al sincitiotrofoblasto a liberar citoquinas proinflamatorias, exosomas, factores antiangiogénicos y ADN fetal libre en la circulación materna^{4,10}, se consideró necesario investigar biomarcadores en mujeres peruanas preeclámpticas y determinar su utilidad para predecir, prevenir y manejar la preeclampsia. Esta investigación evalúa en mujeres peruanas preeclámpticas y gestantes sin preeclampsia, los polimorfismos genéticos VEGF +936 C/T y 405 +G/C, IL-6 -174 G/C, IL-1B -511C/T²⁸, ApoA-1 -75 G/A y ApoB-100 XbaI. Nuestros hallazgos aumentan nuestro conocimiento sobre los factores genéticos asociados a la preeclampsia, un tema de investigación emergente en el Perú.

Tabla 1. Número de mujeres preeclámpticas y controles incluidas en el estudio.

Gen	Polimorfismo	Preeclampsia	Controles	Total
VEGF	+936 C/T	45	49	94
	+405 G/C	39	45	84
IL-6	-174 G/C	20	39	59
IL1 β	-511 C/T	49	50	99
Apo A-1	-75 G/A	47	45	92
Apo B-100	2 488 C/T (Xbal)	47	45	92

Materiales y Métodos

Este estudio es observacional y asociativo tipo casos y controles, realizado entre 2012 y 2018. Las instituciones participantes fueron el Instituto de Investigaciones Clínicas y el Centro de Investigación en Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina y la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Marcos, Lima, Perú. Las gestantes fueron enroladas en el Hospital Docente Madre-Niño San Bartolomé, institución pública administrada por el Ministerio de Salud del Perú.

Se definió como preeclámptica a la gestante con presión arterial de $>140/90$ mmHg y proteinuria de ≥ 300 mg/24 h ($>1+$ con tira reactiva), según la clasificación de la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia, actualizada en el año 2000 ¹.

El método de muestreo fue no probabilístico (por conveniencia). Los criterios de inclusión para el grupo de preeclampsia fueron los siguientes: gestantes de ≥ 18 años de edad con diagnóstico de preeclampsia grave en la segunda mitad del embarazo, confirmada por datos clínicos y de laboratorio, y que habían firmado un consentimiento informado. Se excluyeron las gestantes sin proteinuria o con hipertensión crónica, diabetes y otras condiciones médicas, así como las que tenían información incompleta. Para el grupo de control, los criterios de inclusión fueron los siguientes: gestantes de ≥ 18 años de edad, aparentemente sanas, sin preeclampsia y sin enfermedades relevantes y que firmaron el consentimiento informado. La Tabla 1 presenta el número de casos y controles estudiados para cada polimorfismo genético.

Se obtuvo la aprobación del protocolo de investigación por parte del Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de San Marcos y del comité de ética del hospital participante. Se llenó una ficha clínica *ad hoc* con los datos de la madre y del recién nacido. Se obtuvo el consentimiento informado firmado por cada participante. Se extrajo muestras de sangre (5 mL) de la vena antecubital de las participantes, que fueron conservadas en un refrigerador y después transportadas al laboratorio. Se extrajo el ADN de las muestras de sangre usando kits comerciales y luego se determinaron los genotipos y alelos de los genes investigados.

Los datos maternos ingresados a la ficha *ad hoc* fueron los siguientes: edad, estado civil, estatura, peso, antecedentes médicos personales (hipertensión, preeclampsia previa, diabetes mellitus, neuropatía, cardiopatía y síndrome metabólico), antecedentes médicos familiares (hipertensión, diabetes mellitus, obesidad, síndrome metabólico y otras afecciones), número de embarazos, partos prematuros, recién nacidos de peso bajo, niveles de hemoglobina, tipo de parto, edad gestacional en el momento del parto y estancia hospitalaria (en días). Los datos de los recién nacidos fueron: peso, puntuaciones de Apgar a 1 y 5 minutos, edad gestacional, complicaciones (sufrimiento fetal, distrés respiratorio y asfisia perinatal), RCIU, prematuridad, síndrome de dificultad respiratoria, ictericia, infección, muerte fetal, muerte neonatal, malformaciones y estancia hospitalaria (en días).

Para el análisis genético molecular se utilizó la técnica PCR-RFLP, empleándose protocolos específicos para cada gen y garantizándose las condiciones óptimas de laboratorio. Los genotipos referenciales de los polimorfismos fueron confirmados por secuenciamiento automático de Sanger.

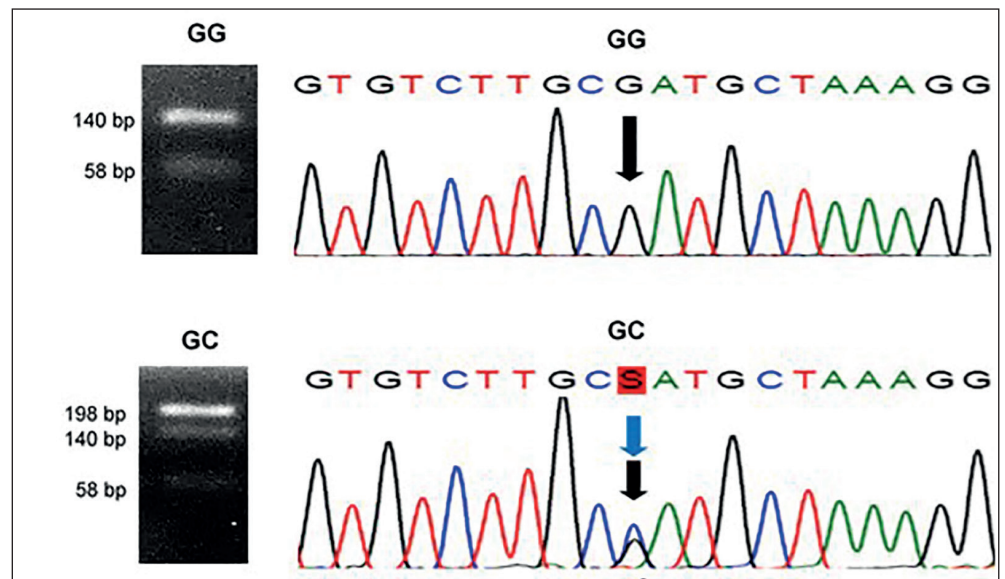


Figura 1. Determinación de los genotipos del polimorfismo -174 G/C en el gen IL6. Izquierda: geles de agarosa con genotipos homocigotos GG (140 y 58 bp) y heterocigotos GC (198, 140 y 58 bp) determinados por PCR-RFLP con SfaNI como enzima de restricción³². Derecha: cromatogramas obtenidos por secuenciamiento automático de Sanger que confirman los genotipos GG y CC (marcados con flechas).

Polimorfismos VEGF +936C/T y +405G/C

Para la amplificación de +936C/T se utilizaron los cebadores específicos F: 5'AAGGAAGGAGACTCTGCGCAGAGC3' y R: 5'TAAATGTATGTATGTGGGTTCTAGG3', y para la digestión se usó la enzima NlaIII según el protocolo de Papazoglou²⁹. Para la amplificación de +405G/C se utilizaron los cebadores F: 5'CCGACGGCTTGGGA GATTGCTC3' y R: 5'CGGCGTCACCCAAAAGCAG3' y la enzima BsmFI para la digestión, según protocolos de Banyasz³⁰ y Garza-Veloz³¹.

Polimorfismo IL-6 -174G/C

Para la amplificación se usaron los cebadores específicos F: 5'TGACTTCAGCTTTAC TCTTTGT3' y R: 5'CTGATTGGAAACCTTATTAGG3' para la amplificación, y la enzima de restricción SfaNI para la digestión, según Berthold³². En la Figura 1 se reportan los genotipos GG y GC obtenidos por PCR-RFLP y el secuenciamiento de Sanger.

Polimorfismo IL1 -511C/T

Para la amplificación se utilizaron los cebadores específicos F: 5'TGGCATTGATCTGGTTCATC3' y R: 5'GTTTAGGAATCTTCCCACTT3', y para la digestión, la enzima de restricción Aval según Acosta²⁸.

Polimorfismo Apo A-1 -75G/A

Para la amplificación se usaron los cebadores específicos F: 5'AGGGACAGCTGATCCTTGAACCTTAAAG3' y R: 5'TTAGGGACCTACCCGTCAGGAAGCA3', y para la digestión, la enzima de restricción MspI según Ordovas³³.

Polimorfismo Apo B-100 2488C/T (XbaI)

Para la amplificación se utilizaron los cebadores específicos F: 5'GGAGATATTCAGAAGCTAA3' y R: 5'GAAGCCTGAAGACTGACT3', y para la digestión, la enzima de restricción XbaI según Hu³⁴.

Los datos fueron analizados mediante el cálculo de las frecuencias alélicas y genotípicas bajo el principio de equilibrio de Hardy-Weinberg. Después se aplicó la prueba de Ji^2 o la prueba exacta de Fisher para establecer la asociación entre los polimorfismos genéticos y la preeclampsia, considerando un $p < 0.05$ y estableciendo el riesgo mediante el *odds ratio* (OR). Se utilizaron los programas IBM SPSS v22, Arlequín v3.5.2 y de asociación genética.

Resultados

Las participantes de los proyectos de preeclampsia entre los años 2012 y 2017 fueron en total 450, siendo excluidas 22 gestantes por las siguientes razones: criterios de inclusión no cumplidos para cualquiera de los dos grupos, datos incompletos, presencia de una enfermedad relevante, coagulación de las muestras de sangre, falta de voluntad para participar o falta de amplificación de la muestra.

Los resultados de las frecuencias alélicas y genotípicas, equilibrio de Hardy-Weinberg, asociación estadística y *odds ratio* se presentan en la Tabla 2.

Las frecuencias genotípicas de las variantes +936 C/T y +405 G/T del gen VEGF y del polimorfismo 2488 C/T (XbaI) en el gen APOB100 en gestantes preeclámpticas se encontraron en desequilibrio de Hardy-Weinberg. ^a Según la prueba de Ji^2 o la prueba exacta de Fisher

Tabla 2. Variantes genéticas en gestantes peruanas con preeclampsia y controles.

Gen	Genotipos y alelos	Preeclampsia	Controles	OR	95% CI	p^a
VEGF +936 C/T	CC	19 (42.2)	19 (38.8)	Referencia		0.062
	CT	12 (26.7)	23 (46.9)	0.523	0.203-1.341	
	TT	14 (31.1)	7 (14.3)	2.000	0.661-6.056	
+405 G/C	C	50 (55.6)	61 (62.2)	Referencia		0.434
	T	40 (44.4)	37 (37.8)	1.319	0.736-2.362	
	GG	7 (17.0)	15 (33.3)	Referencia		0.256
+405 G/C	GC	27 (69.2)	24 (53.4)	2.411	0.842-6.904	
	CC	5 (12.8)	6 (13.3)	1.786	0.403-7.906	
	G	41 (52.6)	54 (60.0)	Referencia		0.356
IL6 -174 G/C	C	37 (47.4)	36 (40.0)	1.354	0.734-2.498	
	CC	4 (20.0)	13 (33.3)	Referencia		0.004
	CG	7 (35.0)	23 (59.0)	0.989	0.243-4.028	
IL6 -174 G/C	GG	9 (45.0)	3 (7.7)	9.750	1.744- 54.525	
	C	15 (37.5)	49 (62.8)	Referencia		0.011
	G	25 (62.5)	29 (37.2)	2.816	1.281-6.191	
IL1B -511 C/T	CC	30 (61.2)	29 (58.0)	Referencia		0.946
	CT	18 (36.7)	20 (40.0)	0.870	0.385-1.968	
	TT	1 (2.1)	1 (2.0)	0.967	0.058-16.192	
IL1B -511 C/T	C	78 (79.6)	78 (78.0)	Referencia		0.863
	T	20 (20.4)	22 (22.0)	0.909	0.460-1.798	
	GG	13 (27.7)	12 (26.7)	Referencia		0.832
APOA1 -75 G/A	GA	23 (48.9)	20 (44.4)	1.062	0.396-2.849	
	AA	11 (23.4)	13 (28.9)	0.781	0.254-2.400	
	G	49 (52.1)	44 (48.9)	Referencia		0.768
APOA1 -75 G/A	A	45 (47.9)	46 (51.1)	0.878	0.493-1.566	
	X-X- (CC)	28 (59.6)	25 (55.6)	Referencia		0.676
	X- X+ (CT)	12 (25.5)	15 (33.3)	0.714	0.282-1.813	
APOB100 2488 C/T (XbaI)	X+X+ (TT)	7 (14.9)	5 (11.1)	1.250	0.352-4.442	
	X-	68 (72.3)	65 (72.2)	Referencia		0.883
	X+	26 (27.7)	25 (27.8)	0.994	0.521-1.896	

Las frecuencias genotípicas de las variantes +936 C/T y +405 G/T del gen VEGF y del polimorfismo 2488 C/T (XbaI) en el gen APOB100 en gestantes preeclámpticas se encontraron en desequilibrio de Hardy-Weinberg. ^a Según la prueba de Ji^2 o la prueba exacta de Fisher

Las frecuencias genotípicas de los polimorfismos VEGF +936C/T y +405G/C en los controles se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg; sin embargo, en los casos estuvieron en desequilibrio, lo que indica la influencia de otros factores.

No se halló asociación entre los genotipos y alelos del polimorfismo VEGF +936 C/T y la preeclampsia ($p= 0.062$ y $p= 0.434$). Las diferencias entre las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo VEGF +405 en los casos y controles, no fueron significativas ($p= 0.256$ y $p= 0.356$). Sin embargo, se destaca que las proporciones de heterocigotos GC (69.2%) y del alelo C (47.4%) fueron mayores en las mujeres preeclámpticas respecto a los controles.

Respecto al polimorfismo IL6 -174 G/C, las frecuencias alélicas y genotípicas, en equilibrio de Hardy-Weinberg, mostraron patrones de distribución diferentes entre las mujeres preeclámpticas y los controles. Bajo un modelo codominante, se consideran de riesgo y con diferencias significativas, el genotipo GG (OR= 9.750, IC 95%: 1.744-54.525, $p= 0.004$, con el genotipo CC como referencia) y el alelo G (OR= 2.816, IC 95%: 1.281-6.191, $p= 0.011$, con el alelo C como referencia), siendo las frecuencias mayores en los casos.

En lo referente al polimorfismo IL-1 β -511C/T, no se encontraron diferencias significativas en las frecuencias de los genotipos TT y CT+CC entre los casos y los controles ($p > 0.946$). El CC homocigoto fue el genotipo más frecuente (más del 50%) en ambos grupos. Para los alelos C y T, igualmente, las diferencias no fueron significativas ($p= 0.863$).

Las frecuencias genotípicas del polimorfismo ApoA-1 -75G/A en los casos y controles se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg, así como los controles para el polimorfismo ApoB100 2488C/T (XbaI); sin embargo, las gestantes preeclámpticas estuvieron en desequilibrio. En general, las frecuencias de los genotipos y alelos para ambos polimorfismos ApoA-1 -75G/A y ApoB100 2488C/T (XbaI), entre los casos y controles, no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) y no estuvieron asociados con la preeclampsia.

Discusión

La causa de la preeclampsia sigue siendo desconocida y no hay métodos para prevenir o tratar esta enfermedad. Además, esta complicación obstétrica puede aparecer de forma inesperada en cualquier mujer embarazada ³.

Se ha observado una asociación entre la preeclampsia y los antecedentes familiares de las embarazadas, y se considera que un factor genético está implicado en su origen. Hasta 2012 se habían descrito 178 genes asociados a la preeclampsia ³⁵. En 2014, entre más de 22 millones de registros de PubMed se encontraron 28,000 artículos relacionados con la preeclampsia, incluyendo 729 artículos que se referían a 535 genes y variantes genéticas con asociación 'significativa' con la preeclampsia ³⁶.

Se han descrito polimorfismos genéticos específicos, incluyendo genes de factores angiogénicos y antiangiogénicos, en gestantes con preeclampsia. Un factor angiogénico es el VEGF, que desempeña un papel crucial en la vasculogénesis y la permeabilidad vascular. Suele expresarse en niveles óptimos tras una adecuada placentación del blastocisto ^{37,38}. El VEGF está regulado genéticamente; algunas de sus variaciones alélicas están posiblemente asociadas a la preeclampsia y algunos de sus polimorfismos funcionan como factores inducidos por la hipoxia que desempeñan un papel en la preeclampsia ³⁷. Cuando la placentación es defectuosa, como en la preeclampsia y el RCIU, los niveles de VEGF son bajos ³⁹. La disminución de los niveles de VEGF puede provocar estrés oxidativo en la placenta ⁴⁰. Los estudios han intentado determinar la relación entre los polimorfismos del VEGF y la preeclampsia ^{41,42}, y algunos han asociado estos polimorfismos con la disfunción endotelial ^{43,44}, la gravedad de la preeclampsia ⁴⁵ o el síndrome HELLP ⁴⁶. También se ha informado de la asociación de algunos polimorfismos del gen VEGF ³⁰, como el +936C/T, con la preeclampsia ^{30,31}.

En el presente estudio, sin embargo, no se ha observado asociación de los polimorfismos del VEGF +936C/T y +405G/C con la preeclampsia en las embarazadas peruanas ($p=0,062$ para +936C/T y $p= 0.256$ para +405G/C). En el polimorfismo +936C/T, el genotipo homocigoto TT mutante fue más frecuente en los casos, mientras que el genotipo heterocigoto CT fue más frecuente en los controles. Las diferencias en las frecuencias de los alelos C y T en los casos y los controles no fueron significativas ($p= 0.434$), igualmente para los genotipos, pero cercano al límite de la significancia ($p= 0.062$). En cuanto al polimorfismo VEGF +405, las proporciones de heterocigotos GC (69.2%) y del alelo C (47.4%) fueron mayores en las mujeres preeclámpticas que en los controles.

Algunos estudios, como los de Shim ⁴⁷ y Papazoglou ²⁹, han informado de una asociación entre los polimorfismos del VEGF y la preeclampsia. En cambio, otros investigadores no han encontrado asociación de la preeclampsia con el polimorfismo del VEGF +936C/T ⁴⁸, con el alelo +813C ⁴⁹, con los alelos menores del VEGF rs699947, rs1570360, rs2010963 y rs25648 ³⁰, con los genes eNOS y DDAH ⁵⁰, y con los alelos del VEGF -2578C/A, -634G/C y 936C/T. El alelo 936C/T se ha asociado únicamente con la preeclampsia grave ⁴⁵. En América Latina, Sandrim et al. ⁵¹ han encontrado asociación de los haplotipos - C2578A, -1154G y -634C con la prevención de la preeclampsia; una asociación similar con el alelo C-2578A fue hallada por Cunha et al. ⁴⁸; ambos estudios fueron realizados en Brasil. Sin embargo, en Ecuador, el grupo de Sandrim no ha encontrado dicha asociación con el VEGF C2578A y G634C, como tampoco Chedraui et al. ⁴⁴ han hallado dicha asociación con los polimorfismos VEGF -2578 C/A, -1498 C/T, -1154 A/G, -634 C/G, y -936C/T ⁷.

Las alteraciones en los perfiles de citoquinas inflamatorias y de lípidos han sido asociadas con la presencia y gravedad de los trastornos hipertensivos del embarazo ^{28,52}. Las citocinas son proteínas secretadas por las células inmunitarias innatas o adaptativas, muchas de cuyas funciones están mediadas por citocinas ⁵³. La placenta expresa varias citocinas pro y antiinflamatorias, adipoquinas y factores de crecimiento angiogénicos similares a las citocinas. Sin embargo, la producción de estos marcadores está alterada en la preeclampsia, al menos en parte debido a la hipoxia. Se postula que la disfunción endotelial subyace a las manifestaciones de la preeclampsia ⁵⁴. La activación de las células endoteliales parece estar relacionada con el deterioro de la respuesta inmunitaria materna, la isquemia placentaria ⁵⁵, el estrés oxidativo y la generación de citoquinas inflamatorias ⁵⁶.

Una clase de citoquinas son las interleucinas (IL), que modifican las respuestas biológicas. Las ILs implicadas en la fisiopatología de la preeclampsia ^{11,57,58} incluyen la IL-6 ⁵⁹, la IL-1 ⁶⁰⁻⁶², la IL-17 y la IL-35 ⁶³. El aumento del estrés durante el embarazo es un factor predictivo de una elevada producción de citoquinas proinflamatorias IL-1 e IL-6 por parte de los linfocitos durante el tercer trimestre. Esta alteración de la función celular del sistema inmunitario aumenta el riesgo de preeclampsia y de parto prematuro ⁶⁴. Además, tener un feto de sexo femenino se asocia con niveles bajos de citoquinas proinflamatorias IFN γ e IL-12 en el primer trimestre y con niveles mayores de citoquinas proinflamatorias IL-1 β y TNF β , antiinflamatorias IL-4r y reguladoras IL-5 e IL-10 en el segundo trimestre ⁶⁵. Así pues, el sexo del feto está relacionado con la variabilidad de los niveles de citoquinas.

La IL-6 es una citocina producida por muchas células inmunitarias innatas, neutrófilos y monocitos/macrófagos, y se expresa durante estados de estrés celular, como la inflamación, la infección, la herida y el cáncer ⁶⁶. La IL-6 es un importante mediador de la respuesta inmunitaria en fase aguda y de la proliferación, invasión y diferenciación de los trofoblastos ^{67,68}. Los estudios han sugerido que el polimorfismo del promotor de la IL-6 -174 es un importante regulador genético en la etiología de la preeclampsia de inicio temprano ⁶⁹⁻⁷³. Una revisión sistemática que incluyó 73 artículos y analizó 57 marcadores únicos ha encontrado que los marcadores proinflamatorios IL-6, IL-8 y el factor de necrosis tumoral alfa han obtenido el mayor respaldo como los potenciales marcadores inflamatorios para la vigilancia clínica de la preeclampsia, particularmente durante el segundo y tercer trimestre ⁵⁸.

En las investigaciones, sin embargo, se han encontrado resultados contradictorios en relación con el papel de la IL-6 circulante en la preeclampsia⁶⁹. En América Latina, el estudio brasileño realizado por Pinheiro et al.⁷², encuentra una asociación de protección del alelo IL-6 -174G/C del riesgo de preeclampsia; sin embargo, otro estudio brasileño realizado por Daher et al.⁷³, y un estudio mexicano de Valencia et al.⁷⁴, no hallan la asociación de este alelo con el riesgo de preeclampsia. Nuestro estudio sobre el polimorfismo -174G/C en el gen de la IL-6 mostró una asociación y riesgo para preeclampsia, específicamente para el genotipo GG y el alelo G en las preeclámpticas peruanas. Sin embargo, estos resultados deben ser verificados en una muestra más amplia.

La IL-1 es secretada por los macrófagos, las células endoteliales y algunas células epiteliales, y activa la inflamación de las células endoteliales y la coagulación. Los polimorfismos del gen de la IL-1 han sido asociados con la preeclampsia^{62,63}, el parto pretérmino⁷⁵ y la pérdida recurrente del embarazo⁷⁶. En su estudio brasileño, Leme et al.⁷⁷, hallaron asociación y riesgo para preeclampsia con el alelo T del SNP rs1143630 del gen IL-1, mientras que Pontillo et al.⁷⁸, en el mismo país, no encontraron asociación del SNP rs1143634 en el gen IL1 con la preeclampsia, un hallazgo similar al de otros estudios⁷⁹. El polimorfismo -511 C/T en la región promotora del gen IL-1 β está implicado en la producción diferenciada de citoquinas. Además, puede estar asociado con la respuesta inmune inflamatoria en la obesidad, dislipidemia, cardiopatía, cáncer, infecciones y el tratamiento con nutrientes y fármacos. El polimorfismo IL-1 β -511C/T también se ha estudiado en subpoblaciones peruanas mestizas, amazónicas y andinas²⁸, observándose una alta frecuencia del alelo mutante T, asociado a una mayor producción de citoquinas. En nuestro estudio, no se encontraron diferencias significativas en la distribución de frecuencias del polimorfismo TT y CT+CC del gen IL-1 β entre los casos y los controles.

El metabolismo de las lipoproteínas plasmáticas está regulado y controlado por las apolipoproteínas (apo-) específicas constituyentes de las distintas clases de lipoproteínas⁸⁰. Las apolipoproteínas regulan el metabolismo de las proteínas transportando y redistribuyendo los lípidos a las células y los tejidos. La lipoproteína A (LpA) es una partícula de lipoproteína de baja densidad (LDL) modificada con una apolipoproteína A (Apo A-1), principal componente de las partículas estructurales de la lipoproteína de alta densidad (HDL), que presenta propiedades antiinflamatorias, inhibe la oxidación de las LDL y elimina el exceso de colesterol de los macrófagos^{81,82}. La Apo A-1 también protege la integración trofoblasto-célula endotelial en presencia de un estímulo proinflamatorio. Las mujeres con preeclampsia tienen niveles bajos de Apo A-1, lo que disminuye su capacidad de controlar las LDL y la inflamación^{83,84}. La Apo B-100 representa las partículas Apo B que circulan en el cuerpo, y es una LDL. Se ha propuesto el cociente Apo B-100/Apo A-1 como un parámetro fiable para predecir la aterosclerosis y los acontecimientos mortales derivados de la enfermedad cardiovascular que se relaciona con alteraciones lipídicas⁸⁵.

Se ha descubierto que las concentraciones de Apo A-1 aumentan en el embarazo normal y disminuyen en las mujeres con preeclampsia⁸⁴; por lo tanto, las concentraciones de Apo A-1 son un importante factor de riesgo de aterosclerosis entre las mujeres preeclámpticas⁸⁶. Otros investigadores han encontrado niveles más bajos de Apo A-1 solo en pacientes con preeclampsia grave⁸⁷. La Apo B se considera una medida de las lipoproteínas aterogénicas y puede utilizarse para predecir el riesgo de enfermedad cardiovascular aterosclerótica⁸⁸. Sin embargo, no se ha observado diferencias en los niveles de Apo A-1 y Apo B entre las gestantes preeclámpticas y las normales^{87,89}. En nuestro estudio sobre los genes Apo A-1 y Apo B-100, no se encontró diferencias significativas entre los genotipos y alelos de las preeclámpticas y los controles.

Una relación Apo B/Apo A-1 más elevada se ha asociado a mayor riesgo de preeclampsia⁹⁰. Timur et al.⁹¹, han comunicado que las pacientes preeclámpticas presentan niveles de Apo A-1 significativamente bajos y una relación Apo B-100/Apo A-1 elevada, y consideran estos parámetros como marcadores útiles. Por el contrario, Kharb et al.⁹², hallaron que los niveles de Apo A-1 y Apo B en sangre circulante y en sangre del cordón umbilical eran más bajos en las mujeres preeclámpticas que en las gestantes normotensas. Existen reportes contradictorios

respecto a los niveles de Apo A-1 y Apo B-100 y la posible asociación de la razón ApoA-1/ApoB-100 con la preeclampsia. No obstante, los estudios han hallado asociación de estos polimorfismos genéticos con la enfermedad cardiovascular ⁹³, la dislipidemia ⁹⁴, osteonecrosis ⁹⁵ y otros trastornos.

En nuestro estudio, el desequilibrio de Hardy-Weinberg de las frecuencias genotípicas en los polimorfismos VEGF y ApoB-100 en las mujeres preeclámpicas puede indicar mixtura poblacional y/o características específicas de las pacientes. Sin embargo, la falta de asociación de estos polimorfismos con la preeclampsia fue corroborada por la prueba de tendencia de Armitage, cuyo resultado es válido incluso cuando las frecuencias se apartan del equilibrio de Hardy-Weinberg.

La búsqueda de genes de susceptibilidad ha llevado a un aumento drástico del número de estudios publicados que asocian los factores genéticos con la preeclampsia. Sin embargo, los intentos de replicar los hallazgos de estos trabajos han producido resultados inconsistentes, excepto para los genes ACE, CTLA4, F2, FV, LPL y SERPINE1 ⁹⁶.

Conclusiones

En el presente estudio se ha analizado polimorfismos relacionados con la función endotelial, la angiogénesis, los procesos inmunológicos e inflamatorios y el síndrome metabólico en mujeres peruanas preeclámpicas. No se ha encontrado asociación entre los marcadores genéticos estudiados y la preeclampsia. Sin embargo, el polimorfismo -174G/C en el gen de la IL-6 presentó diferencias significativas principalmente para el genotipo GG y el alelo G, cuyas frecuencias fueron mayores en los casos respecto a los controles; según los cálculos del OR, serían factores de riesgo. La limitación del estudio de este polimorfismo es el número de muestras de casos (n= 20), lo que debe ser un estímulo para estudios posteriores.

Los resultados contradictorios del trabajo pueden explicarse parcialmente por la composición genética de la población peruana. Lima, la ciudad peruana donde se llevó a cabo el estudio, tiene una población mixta, caracterizada por un alto componente amerindio, en alrededor del 70%, y por ascendencia europea, asiática y africana ⁹⁷. Por lo tanto, se puede considerar en futuras investigaciones la ancestría genética y otras variables, como el sexo del feto.

El presente estudio contribuye a una mejor comprensión de la genética de la preeclampsia en el Perú. Es necesario realizar más investigaciones que incluyan poblaciones más grandes de mujeres embarazadas y otras regiones peruanas, así como incluir genes adicionales relacionados con la preeclampsia, un trastorno poligénico.

Referencias

1. Mustafa R, Ahmed S, Venuto RC. A comprehensive review of hypertension in pregnancy. *J Pregnancy*. 2012; 2012:105918. doi: 10.1155/2012/105918.
2. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG issues updated hypertension guidance, discusses new ACC/AHA criteria. *ACOG*; 2018. <https://www.acog.org/news/news-releases/2018/12/acog-issues-updated-hypertension-guidance>
3. Pacheco J, Wagner P, Williams MA, Sánchez S. Enfermedades hipertensivas en la gestación. In: Pacheco J. *Ginecología, Obstetricia y Reproducción*. 2ª Edición. Lima: REP SAC. 2007:1097-130.
4. Burton GJ, Redman CW, Roberts JM, Moffett A. Pre-eclampsia: pathophysiology and clinical implications. *BMJ*. 2019; 366: l2381. doi: 10.1136/bmj.l2381.
5. Harmon AC, Cornelius DC, Amaral LM, Faulkner JL, Cunningham Jr MW, Wallace K, et al. The role of inflammation in the pathology of preeclampsia. *Clin Sci (Lond)*. 2016; 130(6): 409-19. doi:10.1042/CS20150702.

6. Sánchez-Aranguren LC, Prada CE, Riaño-Medina CE, Lopez M. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress. *Front Physiol.* 2014; 5: 372. doi: 10.3389/fphys.2014.00372.
7. Tomoya MR, de Lima Kaminski V, Bogo Chies JÁ. Genetic variants in preeclampsia: lesson from studies in Latin-American populations. *Front Physiol.* 2018; 9: 1771. doi: 10.3389/fphys.2018.01771.
8. American College of Obstetricians and Gynecologists. Gestational hypertension and preeclampsia. *ACOG Practice Bulletin No. 202.* *Obstet Gynecol.* 2019; 133(1): e1-e25.
9. Williams P, Broughton F. The genetics of pre-eclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2011; 25(4-4): 405-17. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2011.02.007.
10. Redman CW, Sargent IL, Staff AC. IFPA Senior Award Lecture: Making sense of pre-eclampsia - two placental causes of preeclampsia? *Placenta.* 2014; 35(Suppl): S20-5. doi:10.1016/j.placenta.2013.12.008.
11. Cindrova-Davies T, Fogarty NME, Jones CJP, Kingdom J, Burton GJ. Evidence of oxidative stress-induced senescence in mature, postmature and pathological human placentas. *Placenta.* 2018; 68: 15-22. doi: 10.1016/j.placenta.2018.06.307.
12. Shibata E, Rajakumar A, Powers RW, Larkin RW, Gilmour C, Bodnar LM, et al. Soluble FMS-like tyrosine kinase 1 is increased in preeclampsia but not in normotensive pregnancies with small-for-gestational-age neonates: relationship to circulating placental growth factor. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 4895-903. doi:10.1210/jc.2004-1955.
13. Bokslag A, vsn Weissenbruch M, Mol BW, de Groot CJM. Preeclampsia; short and long-term consequences for mother and neonate. *Early Hum Dev.* 2016; 102: 47-50. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2016.09.007.
14. Gastrich MD, Zinonos S, Bachmann G, Cosgrove NM, Cabrera J, Cheng JQ, et al. Preeclamptic women are at significantly higher risk of future cardiovascular outcomes over a 15-year period. *J Women's Health.* 2020; 29(1): 74-83. Doi: 10.1089/jwh.2019.7671.
15. Aukes AM, De Groot JC, Wiegman MJ, Aarnoudse JG, Sanwikarja GS, Zeeman GG. Long-term cerebral imaging after pre-eclampsia. *BJOG.* 2012; 119(9): 1117-22. doi:10.1111/j.1471-0528.2012.03406.x.
16. McBryde M, Fitzallen GC, Liley HG, Taylor HG, Bora S. Academic outcomes of school-aged children born preterm. A systematic review and meta-analysis. *JAMA Network Open.* 2020; 3(4): e202027. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.2027.
17. Sun BZ, Moster D, Harmon QE, Wilcox AJ. Association of preeclampsia in term births with neurodevelopmental disorders in offspring. *JAMA Psychiatry.* 2020; 77(8):823-829. doi:10.1001/jamapsychiatry.2020.0306.
18. Pacheco J. Del Editor sobre la publicación de una aproximación bioinformática a la genética de la preeclampsia. *Re Peru Ginecol Obstet.* 2014; 60(2): 105-7. Doi: 10.31403/rpgo.v60i119.
19. Sahin H, Gunel T, Benian A, Ucar EA, Guralp O, Kilic A. Genomic and proteomic investigation of preeclampsia. *Experim Ther Med.* 2015; 10: 711-6. DOI: 10.3892/etm.2015.2509.
20. Harmon QE, Engel SM, Wu MC, Moran TM, Luo J, Stuebe AM, et al. Polymorphisms in inflammatory genes are associated with term small for gestational age and preeclampsia. *Am J Reprod Immunol.* 2014; 71(5): 472-84. doi: 10.1111/aji.12241.
21. Karumanchi SA. Angiogenic factors in preeclampsia: from diagnosis to therapy. *Hypertension.* 2016; 67: 1072-9. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.06421.
22. Honigberg MC, Cantonwine DE, Thomas AM, Lim KH, Parry SI, McElrath TF. Analysis of changes in maternal circulating angiogenic factors throughout pregnancy for the prediction of preeclampsia. *J Perinatol.* 2016; 36(3): 172-7. doi: 10.1038/jp.2015.170.

23. Gene. PGF Placental growth factor [Homo sapiens (human)]. Gene ID: 5228, updated on 24-Nov-2020. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=5228>
24. Chaiworapongsa T, Romero R, Savasan ZA, Kusanovic JP, Ogge G, Soto E, et al. Maternal plasma concentrations of angiogenic/anti-angiogenic factors are of prognostic value in patients presenting to the obstetrical triage area with the suspicion of preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2011; 24(10): 1187-207. DOI: 10.3109/14767058.2011.589932
25. Roberts JM, Rajakumar A. Preeclampsia and soluble fms-like tyrosine kinase 1. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94(7): 2252-4. doi: 10.1210/jc.2009-0945.
26. Barden AE, Herbison CE, Beilin LJ, Michael CA, Walters BN, Van Bockxmeer FM. Association between the endothelin-1 gene Lys198Asn polymorphism blood pressure and plasma endothelin-1 levels in normal and pre-eclamptic pregnancy. *J Hypertens.* 2001; 19(10): 1775-82. DOI: 10.1097/00004872-200110000-00011
27. Aggarwal PK, Jain V, Srinivasan R, Jha V. Maternal EDN1 G5665T polymorphism influences circulating endothelin-1 levels and plays a role in determination of preeclampsia phenotype. *J Hypertens.* 2009; 27(10): 2044-50. DOI: 10.1097/HJH.0b013e32832f7f3f
28. Acosta O, Solano L, Huerta D, Oré D, Sandoval J, Figueroa J, et al. Variabilidad genética de la respuesta inflamatoria. I. Polimorfismo -511 C/T en el gen IL1 β en diferentes subpoblaciones peruanas. *An fac med.* 2012;73(3):221-5. DOI: 10.15381/anales.v73i3.868.
29. Papazoglou D, Galazios G, Koukourakis MI, Panagopoulos I, Kontomanolis EN, Papatheodorou K, et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and pre-eclampsia. *Mol Hum Reprod.* 2004; 10(5):321-4. DOI: 10.1093/molehr/gah048
30. Bányász I, Szabo S, Bokodi G, Vannay A, Vasarhelyi B, Szabo A, et al. Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in severe pre-eclampsia. *Mol Hum Reprod.* 2006; 12(4): 233-6.
31. Garza-Veloz I, Castruita-De La Rosa C, Cortes-Flores R, Martínez-Gaytan V, Rivera-Muñoz JE, Garcia-Mayorga EA, et al. No association between polymorphisms/haplotypes of the vascular endothelial growth factor gene and preeclampsia. *BMC Pregnancy and Childbirth.* 2011; 11: 35. doi: 10.1186/1471-2393-11-35.
32. Berthold HK, Laudes M, Krone W, Gouni-Berthold I. Association between the interleukin-6 promoter polymorphism -174G/C and serum lipoprotein(a) concentrations in humans. *PLoS One.* 2011; 6(9): e24719. Doi: 10.1371/journal.pone.0024719
33. Ordovas J, Corella D, Cupples L, Demissie S, Kelleher A, Coltell O, et al. Polyunsaturated fatty acids modulate the effects of the APOA1 G-A polymorphism on HDL-cholesterol concentrations in a sex-specific manner: the Framingham Study. *Am J Clin Nutr.* 2002; 75(1): 38-46. DOI: 10.1093/ajcn/75.1.38
34. Hu P, Qin Y, Jing C, Lu L, Hu B, Du P. Effect of apolipoprotein B polymorphism on body mass index, serum protein and lipid profiles in children of Guangxi, China. *Ann Hum Biol.* 2009; 36(4): 411-20. doi:10.1080/03014460902882475
35. Jebbink J, Wolters A, Fernando F, Afink G, van der Post J, Ris-Stalpers C. Molecular genetics of preeclampsia and HELLP syndrome - A review. *Biochim Biophys Acta.* 2012; 1822(12): 1960-9. DOI: 10.1016/j.bbdis.2012.08.004
36. Triche EW, Uzun A, DeWan AT, Kurihara I, Liu J, Occhiogrosso R, et al. Bioinformatic approach to the genetics of preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2014; 123(6): 1155- 61. DOI: 10.1097/AOG.0000000000000293
37. Galazios G, Papazoglou D, Tsikouras P, Kolios G. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009; 22(5):371-8. DOI: 10.1080/14767050802645035.
38. Gómez CLM. Actualización en la fisiopatología de la preeclampsia. *Rev Peru Ginecol Obstet.* 2014;60(4):321-32. DOI: 10.31403/rpgo.v60i156

39. Mateus J. Significancia del desbalance de los factores angiogénicos en preeclampsia. *Rev Peru Ginecol Obstet.* 2014;60(4):33-44. DOI: 10.31403/rpgo.v60i157
40. Kweider N, Fragoulis A, Rosen C, Pecks U, Rath W, Pufe T, et al. Interplay between vascular endothelial growth factor (VEGF) and the nuclear factor erythroid 2-related factor-2 (Nrf2): implications for preeclampsia. *J Biol Chem.* 2011; 286(50): 42863-72. DOI: 10.1074/jbc.M111.286880
41. Song GG, Kim JH, Lee YH. Associations between vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and pre-eclampsia susceptibility: a meta-analysis. *Immunol Invest.* 2013;42(8):749-62. doi: 10.3109/08820139.2013.
42. Cheng D, Hao Y, Zhou W, Ma Y. Vascular endothelial growth factor +936C/T, -634G/C, -2578C/A, and -1154G/A polymorphisms with risk of preeclampsia: a meta-analysis. *PLoS One.* 2013; 8(11): e78173. doi: 10.1371/journal.pone.0078173.
43. Luizon MR, Palei AC, Sandrim VC. Polymorphisms and haplotypes in candidate genes related to angiogenesis and endothelial dysfunction in preeclampsia. *J Pregnancy.* 2012; 2012: 914704. doi: 10.1155/2012/914704.
44. Chedraui P, Solis EJ, Bocci G, Gopal S, Russo E, Escobar GS, Hidalgo L, et al. Feto-placental nitric oxide, asymmetric dimethylarginine and vascular endothelial growth factor (VEGF) levels and VEGF gene polymorphisms in severe preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2013; 26(3): 226-32. doi: 10.3109/14767058.2012.733760
45. Procopciuc LM, Caracostea G, Zaharie G, Stamatian F. Maternal/newborn VEGF-C936T interaction and its influence on the risk, severity and prognosis of preeclampsia, as well as on the maternal angiogenic profile. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014; 27(17):1754-60. doi: 10.3109/14767058.2014.942625.
46. Haram K, Mortensen JH, Nagy B. Genetic aspects of preeclampsia and the HELLP syndrome. *J Pregnancy.* 2014; 2014: 910751. doi: 10.1155/2014/910751
47. Shim JY, Jun JK, Jung BK, Kim SH, Won HS, Lee PR, et al. Vascular endothelial growth factor gene +936 C/T polymorphism is associated with preeclampsia in Korean women. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;197(3):271.e1-4.
48. Cunha VM, Grecco RL, Paschoini MC, Silva SR, Ruiz MT, Balarin MA. Polimorfismos genéticos do fator de crescimento do endotélio vascular na pré-eclâmpsia. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2011; 33(7): 158-63.
49. Atis A, Oruc O, Aydin Y, Cetincelik U, Goker N. Vascular endothelial growth factor gene +813CC polymorphism of foetus is associated with preterm labour but not with pre-eclampsia in Turkish pregnant women. *Int J Immunogenet.* 2012; 39(3): 241-6.
50. Kim YJ, Park BH, Park H, Jung SC, Pang MG, Ryu HM, et al. No association of the genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase, dimethylarginine dimethylaminohydrolase, and vascular endothelial growth factor with preeclampsia in Korean populations. *Twin Res Hum Genet.* 2008; 11(1): 77-83. DOI: 10.1375/twin.11.1.77
51. Sandrim VC, Palei ACT, Cavalli RC, Araújo FM, Ramos ES, Duarte G, et al. Vascular endothelial growth factor genotypes and haplotypes are associated with pre-eclampsia but not with gestational hypertension. *Mol Hum Reprod.* 2009; 15: 115-120. doi: 10.1093/molehr/gan076
52. Wang Y, Shi D, Chen L. Lipid profile and cytokines in hypertension of pregnancy: A comparison of preeclampsia therapies. *J Clin Hypertens (Greenwich).* 2018; 20(2): 394-9. doi:10.1111/jch.13161
53. Abbas AK, Lichtman AH. *Inmunología celular y molecular.* Madrid, España: Elsevier Science; 2004. 243-74.
54. Khong TY, Robertson WB. Spiral artery disease. In: Coulam CB, Faulk WP, McIntyre JA, eds. *Immunological obstetrics.* New York; Norton. 1992: 492-501.

55. Taylor RN, Roberts JM. Endothelial cell dysfunction. In: Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham GF, eds. Chesley's hypertensive disorders in pregnancy, 2nd Ed. Stamford: Appleton & Lange; 1999. 395-429.
56. Gilbert JS, Ryan MJ, Lamarca BB, Sedeek M, Murphy SR, Granger JP. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *Am J Physiol*. 2008;294(2):H541-H550.
57. Raghupathy R. Cytokines as key players in the pathophysiology of preeclampsia. *Med Prin Pract*. 2013; 22(Suppl 1): 8-19. doi: 10.1159/000354200
58. Black KD, Horowitz JA. Inflammatory markers and preeclampsia: A systematic review. *Nurs Res*. 2018;67(3):242-51. doi:10.1097/NNR.0000000000000285
59. Zhang Z, Gao Y, Zhang L, Jia L, Wang P, Zhang L, et al. Alterations of IL-6, IL-6R and gp130 in early and late onset severe preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2013; 32(3):270-80. doi: 10.3109/10641855.2013.2013.798332
60. Lachmeijer AMA, Nosti-Escanilla MP, Bastiaans EB, Sandkuijl LA, Kostense PJ, Aarnoudse JG, et al. Linkage and association studies of IL1B and IL1RN gene polymorphisms in preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2002;21(1):23-38. DOI: 10.1081/PRG-120002907
61. Farnaz MF, Afshari JT, Rezaieyazdi Z, Ghomian N. Association of single nucleotide polymorphisms in the human tumor necrosis factor- α and interleukin 1- β genes in patients with pre-eclampsia. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2012; 11(3): 224-9.
62. Wang X, Jiang F, Liang Y, Xu L, Li H, Liu Y, et al. Interleukin-1 β -31C/T and -511T/C polymorphisms were associated with preeclampsia in Chinese Han population. *PLoS One*. 2014; 9(9): e106919. doi: 10.1371/journal.pone.0106919
63. Ozkan ZS, Simsek M, Ilhan F, Devenci D, Godekmerdan A, Sapmaz E. Plasma IL-17, IL-35, interferon- γ , SOCS3 and TGF- β levels in pregnant women with preeclampsia, and their relation with severity of disease. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2014; 27(15): 1513-7. doi: 10.3109/14767058.2013.861415
64. Coussons-Read ME, Okun ML, Nettles CD. Psychosocial stress increases inflammatory markers and alters cytokine production across pregnancy. *Brain Behav Immun*. 2007; 21(3): 343-50. doi:10.1016/j.bbi.2006.08.006.
65. Taylor BD, Ness RB, Klebanoff MA, Tang G, Roberts JM, Hougaard DM, et al. The impact of female fetal sex on preeclampsia and the maternal immune milieu. *Pregnancy Hypertens*. 2018; 12:53-7. doi: 10.1016/j.preghy.2018.02.009
66. Choy E, Rose-John S. Interleukin-6 as a multifunctional regulator: Inflammation, immune response, and fibrosis. *J Scleroderma Related disorders*. *J Scleroderma Related Disorders*. 2017; 2(2 suppl): S1-S5. Doi: 10.5301/jsrd.5000265
67. LaMarca B, Brewer J, Wallace K. IL-6-induced pathophysiology during pre-eclampsia: potential therapeutic role for magnesium sulfate. *Int J Interferon Cytokine Mediator Res*. 2011; 2011(3):59-64. doi:10.2147/IJICMR.S16320
68. Barbosa deLT, Sass N, Mattar R, Moron AF, Torloni MR, Franchim CS, et al. Cytokine gene polymorphisms in preeclampsia and eclampsia. *Hypert Res*. 2009; 32: 565-9. Doi: 10.1038/hr.2009.58
69. Sowmya S, Ramaiah A, Nallari P, Jyothy A, Venkateshwari A. Role of IL-6 -174(G/C) promoter polymorphism in the etiology of early-onset preeclampsia. *Inflamm Res*. 2015; 64(6): 433-9. doi: 10.1007/s00011-015-0823-z
70. Fan DM, Wang Y, Liu XL, Zhang A, Xu Q. Polymorphisms in interleukin-6 and interleukin-10 may be associated with risk of preeclampsia. *Genet Mol Res*. 2017; 16(1): gmr16018588. doi: 10.4238/gmr16018588
71. Puppala M, Kalpana VL, Aniradha A, Shusma M, Sudhakar G, Polipalli SK. Association of tumor necrosis factor- α and interleukin-6 gene polymorphisms with preeclampsia. *Int J Bioassays*. 2016; 5(02): 4774.

72. Pinheiro MB, Gomes KB, Ronda ARSC, Guimaraes GG, Freitas LG, Teixeira-Carvalho A, et al. Severe preeclampsia: Association of genes polymorphisms and maternal cytokines production in Brazilian population. *Cytokine*. 2014; 71: 232-7. Doi: 10.1016/j.cyto.2014.10.021
73. Daher S, Sass N, Oliveira LG, Mattar R. Cytokine genotyping in preeclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 2006; 55: 130-135. doi: 10.1111/j.1600-0897.2005.00341.x
74. Valencia VEY, Canto-Cetina T, Romero AJF, Coral-Vázquez RM, Canizales-Quinteros S, Coronel A, et al. Analysis of polymorphisms in interleukin-10, interleukin-6, and interleukin-1 receptor antagonist in Mexican-Mestizo women with pre-eclampsia. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2012; 16: 1263-1269. doi: 10.1089/gtmb.2012.0181
75. Schmid M, Haslinger P, Stary S, Leipold H, Egarter C, Grimm C. Interleukin-1 beta gene polymorphisms and preterm birth. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2012; 165(1): 33-6. doi: 10.1016/j.ejogrb.2012.07.013.
76. Nair RR, Khanna A, Singh K. Association of interleukin 1 receptor antagonist (IL1RN) gene polymorphism with recurrent pregnancy loss risk in the North Indian Population and a meta-analysis. *Mol Biol Rep*. 2014; 41(9): 5719-27. doi: 10.1007/s11033-014-3443-8.
77. Leme GLP, Menezes FE, Mendonca C, Barreto I, Alvim-Pereira C, Alvim-Pereira F, et al. Analysis of association of clinical aspects and IL1B tagSNPs with severe preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2016; 35: 112-122. doi: 10.3109/10641955.2015.1116554
78. Pontillo A, Reis EC, Bricher PN, Vianna P, Diniz S, Fernandes KS, et al. NLRP1 L155H polymorphism is a risk factor for preeclampsia development. *Am J Reprod Immunol*. 2015; 73: 577-581. doi: 10.1111/aji.12353
79. Kang L, Chen C-H, Yu C-H, Chang C-H, Chang F-M. Interleukin-1 β gene is not associated with preeclampsia in Taiwanese. *Taiwanese J Obstet Gynecol*. 2012; 51(2): 240-4. Doi: 10.1016/j.tjog.2012.04.014
80. Mahley RW, Innerarity TL, Rall Jr SC, Weisgraber KH. Plasma lipoproteins: Apolipoprotein structure and function. *J Lipid Res*. 1984; 25(12): 1277-94.
81. Orsó E, Schmitz G. Lipoprotein(a) and its role in inflammation, atherosclerosis and malignancies. *Clin Res Cardiol Suppl*. 2017;12(Suppl 1):31-7. doi:10.1007/s11789-017-0084-1
82. Oram JF, Yokoyama S. Apolipoprotein-mediated removal of cellular cholesterol and phospholipids. *J Lipid Res* 1996; 37(12):2473-91.
83. Charlton F, Bobek G, Stait-Gardner T, Price WS, Mirabito CKM, Xu B, et al. The protective effect of apolipoprotein in models of trophoblast invasion and preeclampsia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2017; 312(1): R40-R48. doi:10.1152/ajpregu.00331.2016
84. Rosing U, Samsioe G, Olund A, Johansson B, Kallner A. Serum levels of apolipoprotein A-I, A-II and HDL-cholesterol in second half of normal pregnancy and in pregnancy complicated by pre-eclampsia. *Horm Metab Res*. 1989;21(7):376-82. doi: 10.1055/s-2007-1009242
85. Castillo AI, Armas RNB, Dueñas HA, González GOR, Arocha MC, Castillo GA. Riesgo cardiovascular según tablas de la OMS, el estudio Framingham y la razón apolipoproteína B/apolipoproteína A1. *Rev Cubana Invest Biomed*. 2010; 29(4): 479-88.
86. Bayhan G, Koçyigit Y, Atamer A, Atamer Y, Akkus Z. Potential atherogenic roles of lipids, lipoprotein(a) and lipid peroxidation in preeclampsia. *Gynecol Endocrinol*. 2005;21(1):1-6. doi:10.1080/09513590500097382
87. Zhang H, Zhang Y, Yang F, Lius S, Xu Z, Wang J, et al. Complement component C4A and apolipoprotein A-I in plasmas as biomarkers of the severe, early-onset preeclampsia. *Mol Biosyst*. 2011;7(8):2470-9. doi:10.1039/c1mb05142c
88. Carr SS, Hooper AJ, Sullivan DR, Burnett JR. Non-HDL-cholesterol and apolipoprotein B compared with LDL-cholesterol in atherosclerotic cardiovascular disease risk assessment. *Pathology*. 2019;51(2):148-54. doi:10.1016/j.pathol.2018.11.006

89. Var A, Kuscu NK, Koyuncu F, Uyanik BS, Onur E, Yildirim Y, Oruç S. Atherogenic profile in preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet*. 2003;268(1):45-7.
90. Serrano NC, Guio-Mahecha E, Quintero-Lesmes DC, Becerra-Bayona S, Paez MC, et al. Lipid profile, plasma apolipoproteins, and pre-eclampsia risk in the GenPE case-control study. *Atherosclerosis*. 2018; 276:189-94. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2018.05.051
91. Timur H, Korkut DH, Kara O, Kirbas A, Inal HA, Gencosmanoglu TG, et al. A study of serum Apo A-1 and Apo B-100 levels in women with preeclampsia. *Pregnancy Hypertens*. 2016; 6(2):121-5. DOI: 10.1016/j.preghy.2016.04.003
92. Kharb S, Bala J, Nanda S. Markers of obesity and growth in preeclamptic and normotensive pregnant women. *J Obstet Gynaecol*. 2017;37(5):610-5. doi:10.1080/01443615.2017.1286463
93. Bora K, Pathak MS, Borah P, Hussain I, Das D. Association of the apolipoprotein A-I gene polymorphisms with cardiovascular disease risk factors and atherogenic indices in patients from Assam, Northeast India. *Balkan J Med Genet*. 2017; 20(1):59-70. doi: 10.1515/bjmg-2017-0002
94. Ou HJ, Huang G, Liu W, Ma XL, Wei Y, Zhou T, et al. Relationship of the APOA5/A4/C3/A1 gene cluster and APOB gene polymorphisms with dyslipidemia. *Genet Mol Res*. 2015;14(3):9277-90. doi:10.4238/2015.August.10.8
95. Chen L, Wei P, Jiang K, Xia XX. Apolipoprotein A1 and neuronal nitric oxide synthase gene polymorphisms and hormone-related osteonecrosis of the femoral head. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2017;21(14):3159-63.
96. Buurma AJ, Turner RJ, Driessen JHM, Mooyaart AL, Schoones JW, Bruijn JA, Bloemenkamp KWM, Dekkers OM, Baelde HJ. Genetic variants in pre-eclampsia: a meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2013; 19(3):289-303. doi: 10.1093/humupd/dms060
97. Sandoval J, Salazar-Granara A, Acosta O, Castillo-Herrera W, Fujita R, Pena SDJ, et al. Tracing the genomic ancestry of Peruvians reveals a major legacy of pre-Columbian ancestors. *J Hum Genet* 2013; 58(9):627-34. doi: 10.1038/jhg.2013.73.