



**Universidad Autónoma de Sinaloa**  
**Facultad de Ciencias Químico-Biológicas**  
Programa Regional de Posgrado en Biotecnología  
Doctorado en Ciencias en Biotecnología

**Perfil de Expresión Génica Placentaria en  
Preeclampsia y Restricción del  
Crecimiento Intrauterino**

**T E S I S**

que presenta

**Diana Vanessa Medina Bastidas**

como requisito para obtener el grado de  
**Doctora en Ciencias**  
**en Biotecnología de salud**

**Director de Tesis**

**Dra. Guadalupe Estrada Gutiérrez**  
**Dra. Eliakym Arámbula Meraz**

**Culiacán Rosales, Sinaloa, México**

**Octubre de 2020**





# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

## CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Culiacán Rosales, Sinaloa, el día 15 del mes octubre del año 2020, la que suscribe Diana Vanessa Medina Bastidas alumna del Doctorado en Ciencias en Biotecnología, Programa Regional de Posgrado en Biotecnología, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, con número de cuenta 0625705-4, manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de la Dra. Guadalupe Estrada Gutiérrez y la Dra. Eliakym Arámbula Meraz y cede los derechos del trabajo titulado “Perfil de Expresión Génica Placentaria en Preeclampsia y Restricción del Crecimiento Intrauterino”, a la Universidad Autónoma de Sinaloa para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Diana', is written over a horizontal line.

Diana Vanessa Medina Bastidas

## PRESENTACIÓN

La presente investigación, titulada “Perfil de Expresión Génica Placentaria en Preeclampsia y Restricción del Crecimiento Intrauterino” fue realizada en el “Laboratorio de Biomedicina Molecular”, Instituto Nacional de Perinatología y en el “Laboratorio de Genética y Biología Molecular”, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas”, Universidad Autónoma de Sinaloa. Como Asesores Académicos participaron, Dr. José Giovanni Romero Quintana, Dr. Emir Adolfo Leal León, Dra. Claudia León Sicairos, Dra. Guadalupe Estrada Gutiérrez (Directora de Tesis) y Dra. Eliakym Arámbula Meraz (Directora de Tesis). Este trabajo de investigación forma parte del Proyecto “Perfil de Expresión Génica Diferencial en Tejido Placentario de Pacientes con Preeclampsia, Restricción del Crecimiento Intrauterino y Preeclampsia con Restricción del Crecimiento Intrauterino en Población Mexicana”, Proyecto Institucional Instituto Nacional de Perinatología - Ciudad de México (Dr. Mario Guzmán Huerta) financiado por Fondos INPer-537-2230-10101-01-16. La investigación tuvo carácter interinstitucional, participando: Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”, Hospital de Gineco-Obstetricia “Dr. Luis Castelazo Ayala”, Instituto Mexicano del Seguro Social No. 4 y Universidad Autónoma de Sinaloa. El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología apoyó a la MC. Diana Vanessa Medina Bastidas a través de Beca Nacional para Estudios de Posgrado (Doctorado) en el periodo 2015-19.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres y a José por siempre brindarme su apoyo, ánimos y sobre todo por estar siempre a mi lado.

A mi Directora de Tesis Dra. Guadalupe Estrada Gutiérrez por abrirme las puertas de su Laboratorio y permitirme formar parte de su extraordinario grupo de trabajo, por su gentileza, enseñanzas y enorme apoyo durante todo este proceso.

A mi Directora de Tesis Dra. Eliakym Arámbula Meraz por darme la oportunidad de continuar trabajando bajo su dirección, por todo su apoyo y atinados consejos durante tantos años.

A mi H. Comité Tutorial, por sus atinadas observaciones y contribuciones para la mejora de este proyecto.

Al Dr. Mario Guzmán Huerta y su equipo de trabajo por permitirme colaborar en este proyecto.

Al Dr. César Ruíz Cruz por su invaluable colaboración en el proceso de reclutamiento de pacientes.

A los residentes, enfermeras y todo el personal del Instituto Nacional de Perinatología y el Hospital de Gineco-Obstetricia “Luis Castelazo Ayala”, IMSS No 4. .

A mis compañeros e investigadores del Departamento de Inmuno-Bioquímica Mari, Eye, Isra, Arturo, Aurora, Mario, Sandy y Samantha.

A la Dra. Cecilia Helguera por el apoyo y tiempo dedicado en asesorías.

Un especial agradecimiento a mis amigos que me acompañaron en muchos momentos especiales durante todo este proceso Lety, Adrián, Leonor y Yurian.

## INDICE GENERAL

|  | Pág  |
|--|------|
| INDICE DE CUADROS  | vii  |
| INDICE DE FIGURAS  | viii |
| I RESUMEN  | 1    |
| II INTRODUCCIÓN  | 3    |
| III REVISIÓN DE LA LITERATURA  | 5    |
| A SÍNDROMES OBSTÉRICOS   | 5    |
| B PRECLAMPSIA  | 6    |
| 1 Epidemiología y factores de riesgo   | 7    |
| 2 Características clínicas y fisiopatológicas  | 9    |
| C RESTRICCIÓN DEL CRECIMIENTO INTRAUTERINO   | 15   |
| 1 Epidemiología y factores de riesgo   | 15   |
| 2 Características clínicas y fisiopatológicas  | 16   |
| D FISIOLÓGÍA DE LA ENFERMEDAD PLACENTARIA  | 23   |
| 1 Desarrollo placentario temprano  | 24   |
| 2 Alteraciones del proceso de placentación   | 29   |
| E TRANSCRIPTOMA PLACENTARIO DURANTE EL DESARROLLO E<br>IMPLICACIONES EN PATOLOGÍAS PLACENTARIAS                            | 31   |
| 1 Caracterización del transcriptoma placentario en preclampsia   | 36   |
| 2 Caracterización del transcriptoma placentario en restricción del<br>crecimiento intrauterino                             | 40   |
| 3 Determinación de cambios epigenéticos placentarios asociados<br>a preclampsia y restricción del crecimiento intrauterino | 41   |
| IV JUSTIFICACIÓN   | 44   |
| V OBJETIVOS  | 44   |
| A OBJETIVO GENERAL   | 45   |
| B OBJETIVOS ESPECÍFICOS  | 45   |
| VI MATERIALES Y MÉTODOS  | 46   |
| A DISEÑO EXPERIMENTAL  | 46   |
| 1 Area de estudio  | 46   |
| 2 Definición de la población   | 46   |
| 3 Tamaño de la muestra y definición de los grupos de estudio   | 46   |
| 4 Criterios de selección   | 48   |
| B MÉTODOS  | 49   |

|      |   |     |
|------|---|-----|
| 1    | Recolección de datos y evaluación de los parámetros clínicos y bioquímicos  | 49  |
| 2    | Evaluación de las características placentaria   | 49  |
| 3    | Obtención de muestra del tejido placentario   | 49  |
| 4    | Extracción de RNA   | 49  |
| 5    | Cuantificación y determinación de pureza de RNA   | 50  |
| 6    | Determinación del índice de integridad del RNA  | 50  |
| 7    | Determinación del perfil de expresión génica global en los grupos de estudio  | 50  |
|      | a Microarreglos de expresión génica   | 50  |
|      | b Análisis de datos de expresión  | 52  |
| 8    | Ensayos de validación   | 53  |
|      | a Síntesis de cDNA  | 53  |
|      | b RT-qPCR   | 53  |
| VII  | RESULTADOS Y DISCUSIÓN  |     |
| A    | PARÁMETROS CLÍNICOS, ANTROPOMÉTRICOS E HISTOPATOLÓGICOS DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO  | 56  |
| B    | PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA PLACENTARIA Y ANOTACIÓN FUNCIONAL EN PE Y RCIU   | 60  |
| C    | VALIDACIÓN POR RT-qPCR DE GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESADOS EN PREECLAMPSIA Y EN RESTRICCIÓN DEL CRECIMIENTO INTRAUTERINO | 81  |
| VIII | CONCLUSIONES  | 85  |
| IX   | BIBLIOGRAFÍA  | 86  |
|      | Abreviaturas  | 100 |
|      | Anexos  | 101 |

## ÍNDICE DE CUADROS

| <b>Cuadro</b> | <b>Descripción</b>   | <b>Pág.</b> |
|---------------|--|-------------|
| 1             | Defunciones maternas y Razón de Muerte Materna (RMM), por causa agrupada, México 2020                                | 8           |
| 2             | Condiciones adversas y complicaciones severas en preeclampsia  | 10          |
| 3             | Diagnóstico y clasificación de la Restricción del Crecimiento Intrauterino   | 19          |
| 4             | Genes analizados en los ensayos de validación por RT-qPCR  | 55          |
| 5             | Características maternas y neonatales de los grupos de estudio incluidos en los ensayos de transcriptoma placentario | 58          |
| 6             | Características maternas y neonatales de los grupos de estudio incluidos en los ensayos de validación                | 59          |
| 7             | Histopatología placentaria en preeclampsia y restricción del crecimiento intrauterino                                | 61          |
| 8             | Principales términos enriquecidos de los genes diferencialmente sub-expresados en RCIU                               | 67          |
| 9             | Principales términos enriquecidos de los genes diferencialmente sobre-expresados en RCIU                             | 68          |
| S1            | Genes diferencialmente expresados entre los grupos de estudio  | 101         |



## ÍNDICE DE FIGURAS

| <b>Figura</b> | <b>Descripción</b>   | <b>Pág.</b> |
|---------------|--|-------------|
| 1             | Desarrollo de las vellosidades coriales en el proceso de placentación  | 27          |
| 2             | Alteración en el proceso de remodelación de las arterias espirales en enfermedades asociadas a isquemia placentaria      | 30          |
| 3             | Interacciones y funciones del transcriptoma celular  | 33          |
| 4             | Electroferograma representativo de la evaluación de la integridad del RNA de tejido placentario en los grupos de estudio | 51          |
| 5             | Distribución de los genes diferencialmente expresados en las condiciones de estudio                                      | 64          |
| 6             | Patrones de expresión génica compartidos en PE y RCIU  | 65          |
| 7             | Procesos sobre-representados en 39 genes con expresión diferencial en PE y RCIU  | 70          |
| 8             | Validación por RT-qPCR de los genes con expresión diferencial seleccionados  | 83          |
| 9             | Valores de expresión de los genes seleccionados para validación por RTq-PCR  | 84          |

## RESUMEN

La preeclampsia (PE) y la restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) contribuyen en gran medida a la morbilidad y la mortalidad perinatal. Estos trastornos del embarazo se asocian con disfunción placentaria y comparten características fisiopatológicas similares. El objetivo de este estudio fue comparar el perfil de expresión génica placentaria (RNAm y lncRNA) en mujeres de cuatro grupos de estudio: PE, RCIU, PE-RCIU y embarazo normal (EN). El análisis mediante microarreglos de expresión génica se realizó en el tejido placentario obtenido al alumbramiento y los resultados se validaron mediante RTq-PCR. El análisis de expresión génica diferencial reveló que la mayor variación en la transcripción se observó en las muestras de RCIU en comparación con el EN (n = 461; 314 ARNm: 252 sobre- y 62 sub-expresados; 133 lncRNAs: 36 sobre- y 98 sub-expresados). También se detectó un grupo de transcritos con expresión diferencial compartida entre las muestras PE y RCIU comparadas con EN (n = 39), incluyendo 9 lncRNAs con un alto grado de correlación ( $P < 0,05$ ). El enriquecimiento funcional de estos transcritos compartidos mostró que las vías de señalización de citocinas, modificación de proteínas y regulación de la cascada JAK-STAT están sobre-representadas en ambas enfermedades placentarias. Estos hallazgos contribuyen a la caracterización molecular de la isquemia placentaria y muestran una regulación epigenética común implicada en la fisiopatología de PE y RCIU.

**Palabras clave:** Preeclampsia, Restricción del Crecimiento Intrauterino, Placenta, lncRNA, microarreglos, expresión génica.

## ABSTRACT

Preeclampsia (PE) and Intrauterine Growth Restriction (RCIU) are major contributors to perinatal morbidity and mortality. These pregnancy disorders are associated with placental dysfunction and share similar pathophysiological features. The aim of this study was to compare the placental gene expression profiles, including mRNA and lncRNAs, from pregnant women included in four study groups: PE, RCIU, PE-RCIU, and normal pregnancy (NP). Gene expression microarray analysis was performed on placental tissue obtained at delivery and results were validated using RTq-PCR. Differential gene expression analysis revealed that the largest transcript variation was observed in the RCIU samples compared to NP (n = 461; 314 mRNAs: 252 up-regulated and 62 down-regulated; 133 lncRNAs: 36 up-regulated and 98 down-regulated). We also detected a group of differentially expressed transcripts shared between the PE and RCIU samples compared to NP (n = 39), including 9 lncRNAs with a high correlation degree (p < 0.05). Functional enrichment of these shared transcripts showed that cytokine signaling pathways, protein modification, and regulation of JAK-STAT cascade are over-represented in both placental ischemic diseases. These findings contribute to the molecular characterization of placental ischemia showing common epigenetic regulation implicated in the pathophysiology of PE and RCIU.

**Keywords:** preeclampsia; intrauterine growth restriction; placenta; microarray; gene expression; lncRNA.

## I INTRODUCCIÓN

La preeclampsia (PE) y la restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) son dos de los principales síndromes obstétricos que contribuyen en la morbi-mortalidad materna y perinatal (Tay y col., 2018). Estos trastornos del embarazo tienen graves consecuencias para la salud materno-fetal (Maršál, 2017). La PE se caracteriza por hipertensión *de novo* en el embarazo y proteinuria ( $\geq 3$  g en 24 h); en ausencia de proteinuria, el diagnóstico se establece cuando la hipertensión se asocia con trombocitopenia, edema pulmonar, alteraciones renales, hepáticas y/o neurológicas (Berends y col., 2013; ACOG Practice Bulletin No. 202:, 2019). Por otra parte, la RCIU se define como la incapacidad del feto para alcanzar su potencial de crecimiento genético, que se suele diagnosticar por la desviación estadística del tamaño fetal dentro de las curvas de crecimiento poblacional, en combinación con alteraciones hemodinámicas en la circulación feto-placentaria (Sibley y col., 2005; Burton y Jauniaux, 2018; Tay y col., 2018). Ambas patologías se consideran enfermedades placentarias que comparten un trasfondo común en el que un proceso de placentación defectuoso conduce a insuficiencia placentaria. La placenta es un órgano transitorio que cumple tareas clave para asegurar la nutrición y el suministro de oxígeno al feto en desarrollo. En las enfermedades placentarias, el deterioro de la capacidad del trofoblasto para invadir las arterias espirales del útero provoca daño placentario, caracterizado por resistencia al flujo sanguíneo, hipoxia, aterosclerosis, modificaciones inmunológicas y estrés oxidativo. Sin embargo, aún se desconoce la razón por la cual los efectos sistémicos maternos se limitan a la PE y no aparecen en otros trastornos placentarios. Existe evidencia que sugiere

que los altos niveles de estrés oxidativo, un ambiente proinflamatorio severo y una vasculatura materna anormal, conducen a la disfunción endotelial observada únicamente en PE (Roberts, 2014; Burton y Jauniaux, 2018; Knöfler y col., 2019). Las investigaciones centradas en el estudio de las características placentarias, incluyendo el análisis del transcriptoma, han demostrado con éxito la relación entre estos trastornos y el deterioro de la función placentaria. Los análisis transcripcionales en la placenta se han realizado principalmente con el objetivo de dilucidar los posibles mecanismos moleculares que subyacen a estas enfermedades (Staff y col., 2013; Cox y col., 2015). La mayoría de los estudios se han centrado en el ARNm y recientemente se ha analizado la contribución de los RNA largos no codificantes (lncRNA) en las alteraciones placentarias y su papel como reguladores de múltiples vías moleculares implicadas en la patogénesis (McAninch y col. 2017). La PE es la patología placentaria más frecuentemente estudiada (Zhou y col., 2006; Enquobahrie y col., 2008; V.Sitras y col., 2009; Vasilis-Sitras y col., 2009; Sørensen y col., 2010; Nishizawa y col., 2011; Kleinrouweler y col., 2013; Leavey y col., 2016), mientras que otras complicaciones como la RCIU han sido menos exploradas, por lo que todavía hay un vacío que llenar en cuanto a la firma transcripcional compartida entre ellos, así como en la posibilidad de identificar biomarcadores candidatos para RCIU. El presente estudio se realizó con el objetivo comparar los perfiles de expresión génica placentaria, incluidos los mRNA y los lncRNA de mujeres embarazadas con gestaciones complicadas por PE, RCIU o ambas.

## II REVISIÓN DE LA LITERATURA

### A SÍNDROMES OBSTÉTRICOS

Los desenlaces adversos más frecuentes durante el embarazo incluyen patologías como preeclampsia (PE), restricción del crecimiento intrauterino (RCIU), diabetes gestacional (DG), ruptura prematura de membranas (RPM) y parto pretérmino (PPT), los cuales actualmente son considerados como síndromes obstétricos que potencialmente tienen más de una causa. Este término se refiere a las condiciones patológicas presentadas en el periodo perinatal que cumplen con las siguientes características (Carlo Di Renzo, 2009; Dessì, Marincola y Fanos, 2015):

- Etiología múltiple
- Período preclínico prolongado
- Naturaleza adaptativa
- Implicaciones fetales
- Resultados de interacciones complejas entre el genoma materno y fetal

La PE y la RCIU en conjunto representan la principal causa de morbilidad y mortalidad materno-fetal, especialmente cuando se manifiestan al mismo tiempo, como resultado del espectro más severo de la enfermedad (Parker y Werler, 2014; Maršál, 2017). Adicionalmente, se ha demostrado que el desarrollar alguna de estas patologías durante el embarazo aumenta el riesgo enfermedades cardiovasculares y metabólicas en etapas posteriores de la vida, tanto para la madre como para el feto (Tay y col., 2018).

Por lo anterior, un número creciente de grupos de investigación se enfoca actualmente en el análisis de los mecanismos moleculares y epigenéticos involucrados en la etiología de estos síndromes, así como en el desarrollo de algoritmos predictivos durante las primeras etapas de la gestación, que permitan prevenir las manifestaciones clínicas a través de intervenciones tempranas. Dichos algoritmos utilizan diferentes herramientas de tamizaje tales como la ecografía doppler y la determinación de biomarcadores séricos. Sin embargo, dada la naturaleza de estos síndromes que incluye un amplio espectro de manifestaciones clínicas que se distinguen principalmente por diferentes grados de severidad y el momento de inicio de la enfermedad, la implementación de estas herramientas de forma universal ha sido difícil (Sweeting, y col., 2015).

## **B PREECLAMPSIA**

La PE es considerada como un desorden hipertensivo del embarazo (Rath y Fischer, 2009) y de acuerdo con el National High Blood Pressure Education Program (NHBPEP) Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy, esta se define como un síndrome multisistémico de gravedad variable, específico del embarazo en el ser humano, donde existe una perfusión sistémica reducida secundaria a un vasoespasmo y activación de la cascada de coagulación. Esta enfermedad resulta de un desequilibrio entre las demandas fetales y el suministro placentario que llevan a un estado materno inflamatorio y puede ocasionar manifestaciones clínicas tanto maternas como fetales. (Zamorski y Green, 2001).

## **1 Epidemiología y factores de riesgo**

La PE es considerada como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad materna y perinatal. La incidencia global de esta enfermedad es del 5-14% dependiendo de las características poblacionales, aunque en general, en las naciones en desarrollo la incidencia reportada es de entre 4-18% (Duckitt y Harrington, 2005). Se ha estimado que aproximadamente 50,000 mujeres mueren anualmente en el mundo a causa de esta enfermedad (Bell, 2010). En México, la Secretaría de Salud reporta una frecuencia que oscila del 5 al 10% y señala que la PE es una causa importante de muerte materno-fetal, así como de parto prematuro y muerte perinatal. Existen algunos reportes que indican que esta enfermedad ha llegado a ser responsable de hasta el 34% de las muertes maternas en nuestro país, sin embargo la cifra ha ido disminuyendo en los últimos años (Peralta-Pedrero y col., 2004; Morgan-Ortiz y col., 2010).

De acuerdo con los reportes epidemiológicos de la Subsecretaria de Prevención y Promoción de la Salud, la RMM (Razón de Muerte Materna) en México en la semana 25 del 2020 es de 36.8 defunciones por cada 100 mil nacimientos estimados, lo que representa un incremento del 11.0% en la relación con la misma fecha del 2019. Según este reporte epidemiológico las principales causas de defunción materna a la primera semana de junio de 2020 son; en primer lugar, la enfermedad hipertensiva, edema y proteinuria en el embarazo, parto y puerperio (19.2%), seguido de hemorragia obstétrica (17.5%) y COVID-19 (13.8%) (Cuadro 1).



**Cuadro 1. Defunciones maternas y Razón de Muerte Materna (RMM), por causa agrupada, México 2020**

| <b>Grupo</b>   | <b>Total</b> | <b>RMM</b>  | <b>%</b>   |
|--|--------------|-------------|------------|
| Enfermedades Hipertensivas   | 68           | 7.1         | 19.2       |
| Hemorragia obstétrica  | 62           | 6.4         | 17.5       |
| COVID-19   | 49           | 5.1         | 13.8       |
| Enfermedades del sistema respiratorio que complica el embarazo parto y puerperio | 20           | 2.1         | 5.6        |
| Probable COVID-19  | 18           | 1.9         | 5.1        |
| Aborto   | 21           | 2.2         | 5.9        |
| Sepsis puerperal y otras infecciones   | 13           | 1.4         | 3.7        |
| Otros traumas obstétricos  | 6            | 0.6         | 1.7        |
| Complicaciones obstétricas en el embarazo  | 10           | 1.1         | 2.8        |
| Embolia obstétrica   | 3            | 0.3         | 0.8        |
| Otras causas   | 1            | 0.1         | 0.3        |
| Muerte obstétrica de causa no especificada                                       | 1            | 0.1         | 0.3        |
| Causas maternas indirectas no infecciosas  | 73           | 7.6         | 20.6       |
| Causas maternas indirectas infecciosas   | 6            | 0.6         | 1.7        |
| Sin clasificar   | 3            | 0.3         | 0.8        |
| <b>Total General</b>   | <b>354</b>   | <b>36.8</b> | <b>100</b> |

Tomado de: Informe semanal de notificación inmediata de muerte materna, Semana epidemiológica 25, actualizada al 26 de junio de 2020. Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud, Dirección General de Epidemiología.

Por otro lado, un número importante de reportes en la literatura actual han enlistado una serie de factores de riesgo asociados al desarrollo de PE. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2011) los factores de riesgo principales son: antecedente personal de PE, diabetes, hipertensión crónica, enfermedad renal, enfermedades autoinmunes y embarazo múltiple (Sammour y col., 2011). Otros factores de riesgo que también se han reportado incluyen primiparidad, historia familiar de PE, obesidad, edad materna (<20 y >35 años), periodo intergenésico prolongado, alcoholismo y bajo nivel socioeconómico (Hsieh y col., 2000; Skjærven y col., 2002; Duckitt y Harrington, 2005; Conde-Agudelo y col., 2008).

## **2 Características clínicas y fisiopatológicas**

La PE ocurre normalmente después de la semana 20 de gestación y se determina por la presencia de presión arterial elevada ( $\geq 140$  mmHg/  $\geq 90$  mmHgM, en al menos dos ocasiones con 4 h de diferencia), acompañada de proteinuria, la cual se define como una concentración de proteínas mayor o igual a 300 mg en una muestra de orina de 24 h (Barton y Sibai, 2008; ACOG Practice Bulletin No. 202, 2019). En ausencia de proteinuria, el diagnóstico se establece cuando la aparición *de novo* de hipertensión está asociada con otros factores dentro de los que se incluyen; deterioro de la función renal (creatinina  $>0.9$ g/L y/u oliguria  $<500$  mL/día), falla hepática, dolor epigástrico severo, edema pulmonar, problemas hematológicos (trombocitopenia hemólisis y coagulación diseminada intravascular), problemas neurológicos (dolor de cabeza severo, alteraciones visuales e hiperreflexia) y RCIU (Cuadro 2) (Rath y Fischer, 2009).

**Cuadro 2. Condiciones adversas y complicaciones severas en preeclampsia**

| <b>Órgano o sistema afectado</b> | <b>Condición adversa</b>                                     | <b>Complicaciones severas</b>   |
|----------------------------------|--|---|
| <b>SNC</b>                       | Cefalea/síntomas visuales                                    | Eclampsia   |
|                                  |  | PRES  |
|                                  |  | Ceguera cortical ó desprendimiento de retina  |
|                                  |  | Coma; escala de Glasgow <13<br>Infarto, AIT, DNR  |
| <b>Cardio-respiratorio</b>       | Dolor torácico/disnea  | Hipertensión severa incontrolada (después de 12 horas de uso de tres agentes antihipertensivos) |
|                                  | Saturación de oxígeno <97%                                   | Saturación de oxígeno <90, edema pulmonar   |
|                                  |  | Isquemia miocárdica   |
| <b>Hematológica</b>              | Conteo leucocitario elevado                                  | Transfusión de cualquier componente sanguíneo   |
|                                  | Tiempos de coagulación elevados                              |   |
| <b>Renal</b>                     | Bajo conteo plaquetario                                      | Conteo plaquetario <50x10 <sup>9</sup> /L   |
|                                  | Creatinina sérica elevada                                    | Lesión renal aguda  |
|                                  | Ácido úrico sérico elevado                                   |   |
| <b>Hepático</b>                  | Náusea o vómito  | Disfunción hepática   |
|                                  | Dolor epigástrico  | Hematoma o ruptura hepática   |
|                                  | Enzimas hepáticas elevadas                                   |   |
|                                  | Albúmina plasmática disminuida                               |   |
| <b>Feto-placentaria</b>          | Ritmo cardio-fetal alterado                                  | Desprendimiento con evidencia de compromiso materno-fetal                                       |
|                                  | RCIU   | Onda reversa del ducto venoso   |
|                                  | Oligohidramnios  | Muerte fetal  |
|                                  | Flujo diastólico revertido o ausente en velocimetría Doppler |   |

AIT: Ataque transitorio isquémico, DNR: Déficit neurológico reversible, PRES: Síndrome de leucoencefalopatía posterior reversible. Modificado de: Laura A. Magee y cols (2014). Diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy.

Según el espectro de manifestaciones clínicas que se presentan, esta patología se puede clasificar como leve o severa. La PE leve se refiere a los criterios de diagnóstico mínimos de hipertensión (140/90 mmHg) y proteinuria (300 mg) que comienzan a las 20 semanas de gestación y ocurre hasta en el 75% de los casos. Los embarazos diagnosticados como PE leve generalmente no se asocian con manifestaciones clínicas fetales. Por otro lado, la PE severa se define por la presencia de una o más de las siguientes condiciones: aumento importante de la presión arterial (160/110 mmHg), enzimas hepáticas elevadas, bajo conteo plaquetario, dolor epigástrico, cefalea, visión borrosa, proteinuria (>5gr/24h o de 3 a 4+), edema pulmonar, oligohidramnios, restricción del crecimiento fetal y desprendimiento placentario.

La progresión de leve a severa puede ser rápida, inesperada y en ocasiones fulminante, llevando en casos extremos a fallas renal y hepática, coagulación intravascular diseminada y anomalías del sistema nervioso central, en donde se pueden presentar convulsiones. Cuando esto último ocurre, el trastorno ha evolucionado a una condición llamada eclampsia. La aparición temprana de esta condición (antes de las 34 semanas de gestación) está relacionada con un aumento en el riesgo materno y ocurre entre el 5 y el 10% de los casos en donde se presenta un predisposición al desarrollo de complicaciones potencialmente letales como eclampsia y síndrome de HELLP (hemólisis, enzimas hepáticas elevadas y bajo conteo plaquetario) (Mora y Torres, 2005; Gregg, 2013).

La teoría más generalizada sobre la preeclampsia sugiere que es una enfermedad placentaria ya que la enfermedad desaparece una vez que la placenta es removida

y puede surgir en ausencia del feto con presencia de tejido trofoblástico como en los casos de desarrollo de molas hidatidiformes. La etiología de de la PE es compleja e involucra múltiples vías, que se pueden agrupar en procesos asociados a una placentación inadecuada que desencadenan una cascada de respuestas secundarias, que llevan a los signos y síntomas observados en la enfermedad (Sweeting y col., 2015). Se considera que la isquemia placentaria observada en los casos de PE esta asociada a baja tolerancia inmunológica, desarrollo placentario inadecuado, invasión trofoblástica deficiente, estrés oxidativo y trombosis (Huppertz, 2008). De acuerdo con los eventos fisiopatológicos que se presentan, está enfermedad parece progresar en dos etapas:

**1. Preclínica o asintomática:** parece surgir del mal desarrollo de la placenta por las interacciones feto-maternas aberrantes, que llevan al daño histológico e inadecuada invasión de las células trofoblásticas. Esto resulta en una transformación fallida de las arterias espirales, generando un sistema vascular de alta resistencia que subsecuentemente afecta la perfusión placentaria. Lo anterior genera una hipoxia crónica que da lugar al desarrollo de estrés oxidativo y un aumento de la apoptosis y necrosis placentaria.

**2. Clínica:** surge cuando los sistemas vasculares e inmunológicos maternos no pueden controlar los procesos y se presentan los síntomas maternos de la condición caracterizados por disfunción endotelial, hipertensión y una respuesta inflamatoria exacerbada (Grill y col., 2009).

Además de la isquemia placentaria, la disfunción endotelial es la segunda característica más distintiva en la fisiopatología de la PE. El endotelio tiene funciones de control sobre la circulación mediante la producción de diversas sustancias vasoactivas y ejerce funciones trascendentales en el curso del embarazo normal, éste promueve una profunda reducción de la reactividad vascular frente a la mayoría de los agentes vasoconstrictores, reduce la resistencia vascular periférica y en consecuencia, de la presión arterial, además aumenta la producción de óxido nítrico un importante vasodilatador para la circulación (Gilbert y col., 2008). En la PE existe una respuesta exagerada a los agentes vasoconstrictores, especialmente los componentes del sistema RAS (Renina, Angiotensina, Aldosterona) tienen una participación importante en las manifestaciones clínicas de la enfermedad. La angiotensina II a través de sus receptores, estimula la reabsorción tubular proximal de sodio, la liberación de aldosterona, la liberación de noradrenalina, la liberación de inhibidores del factor tisular activador del plasminógeno, la liberación de factores de crecimiento que actúan sobre las células musculares de los vasos sanguíneos y sobre la matriz extracelular; también estimula la liberación de endotelina que es un importante vasoconstrictor y desencadena la formación de radicales libres que a su vez estimulan la degradación del óxido nítrico, lo que finalmente contribuye al desarrollo de la disfunción endotelial materna. Durante este proceso, también se ha observado un aumento en la expresión de moléculas de adhesión leucocitaria y todos estos eventos condicionan un aumento de las resistencias vasculares periféricas. De acuerdo con lo anterior existe una

serie de mediadores bioquímicos que se han encontrado asociados al desarrollo de disfunción endotelial en PE:

- Aminas vasoactivas
- Proteasas plasmáticas
- Lípidos bioactivos
- Deportación del trofoblasto
- Citocinas
- Radicales libres
- Antígenos de membrana leucocitarios
- Endotelinas (Contreras y col., 2002).

Se ha sugerido que el proceso de disfunción endotelial puede surgir por un aumento en la producción de una gran variedad de factores anti-angiogénicos durante la isquemia placentaria dentro de los que se encuentran; el factor de endotelio vascular 1(VEGF), la fracción soluble de la tirosin cinasa 1 (sFlt1) y la endoglina soluble (sENG), estos factores son liberados a la circulación materna y se asocian con los procesos de hipertensión y proteinuria que ocurren en PE. El proceso de disfunción endotelial culmina en vasoconstricción grave sistémica y afectación multiorgánica de magnitudes diversas tanto para la madre como para el feto (Perni y col., 2012). Todos los componentes involucrados en los procesos fisiopatológicos que subyacen a la enfermedad poseen factores genéticos involucrados y existe de cierto modo una naturaleza hereditaria, rasgo que ha permitido realizar la selección de genes candidatos para su estudio (Berends y col., 2008). Las interacciones entre los

genotipos maternos y fetales, los efectos ambientales y la epistasis (interacción entre diversos genes) también son considerados factores clave para el desarrollo de la PE (Broughton Pipkin, 2001).

## **C RESTRICCIÓN DEL CRECIMIENTO INTRAUTERINO**

La RCIU se define como la incapacidad del feto para alcanzar su potencial de crecimiento genético, es generalmente diagnosticada por la desviación estadística del tamaño del feto dentro de la curva de crecimiento estándar basada en una población. Además de las limitaciones en el crecimiento, los fetos restringidos también presentan alteraciones hemodinámicas de la circulación feto-placentaria (Sibley y col., 2005; Burton y Jauniaux, 2018; Tay y col., 2018).

### **1 Epidemiología y factores de riesgo**

Las alteraciones en el crecimiento fetal afectan hasta el 10% de todas las gestaciones y los fetos con RCIU representan hasta un 20% de las muertes perinatales y un 20% de los nacimientos prematuros (<34 SDG). Las muertes perinatales ocurren de forma mas común entre fetos que se encuentran por debajo del percentil 3 y/o presentan alteraciones de la arteria umbilical (Unterscheider y col., 2014).

Los fetos diagnosticados con RCIU presentan un aumento de 6 a 10 veces en el riesgo de muerte perinatal, mayor morbilidad perinatal (asfixia intraparto, síndrome de aspiración meconial), mayor riesgo de parálisis cerebral y déficit intelectual a largo plazo, así como mayor riesgo de muerte súbita del lactante. Paralela a la morbilidad perinatal y neonatal existe evidencia que asocia a la RCIU con importantes alteraciones en la vida adulta tanto metabólica como cardiovascular.



Incluso en la infancia se han observado alteraciones en el desarrollo neurológico y cardiovascular (Barker, 1990; Miller y col., 2008).

Se ha encontrado que diversos factores pueden afectar el crecimiento fetal, los cuales se pueden agrupar en tres grandes categorías:

- **Factores maternos:** hipertensión arterial, enfermedad renal crónica, diabetes, enfermedad cardíaca o respiratoria, desnutrición, anemia, Infecciones (TORCH), drogadicción (abuso de alcohol, drogas) y tabaquismo
- **Factores útero-placentarios:** isquemia placentaria, desprendimiento placentario, placenta previa, e infección decidual.
- **Factores fetales:** gestación múltiple, infecciones, defectos congénitos y anomalías cromosómicas (Donoso-Bernales y Oyarzú-Ebensperger, 2012).

## **2 Características clínicas y fisiopatológicas**

Los fetos identificados por debajo de percentil 10 se consideran como fetos pequeños para edad gestacional (PEG), sin embargo, a pesar de que todos los casos representan un grupo importante en el seguimiento perinatal al tener un impacto en las tasas de morbilidad, solo se clasifican como RCIU aquellos que presentan alteraciones hemodinámicas (Figueras y Gratacós, 2014).

Dentro de los casos catalogados como RCIU se distinguen dos clases importantes: aquellos con insuficiencia placentaria y los secundarios a daño fetal o placentario intrínseco, como cromosopatías, síndromes genéticos, errores innatos del metabolismo, infecciones intrauterinas y gestaciones múltiples; sin embargo, el

principal grupo de interés en el manejo perinatal es el secundario a insuficiencia placentaria. La identificación de las características clínicas y el diagnóstico de los casos con RCIU se realizan mediante screening ecográfico fetal, en donde se incluye la valoración del crecimiento (Eduardo Sepúlveda y col., 2014).

El protocolo completo de atención en todas las gestaciones incluye la realización de 3 ecografías repartidas durante el primer, segundo y tercer trimestre. El momento de realización y los objetivos de estas ecografías se resume a continuación:

- **1er trimestre (11–13 SDG):** Confirmar gestación intrauterina, confirmar evolutividad de la gestación, determinar el número de fetos y la corionicidad en caso de gestaciones múltiples, datación de la gestación, determinación de los marcadores para aneuploidías, valoración anatómica precoz y determinación del índice de pulsatilidad (IP) de las arterias uterinas para calcular el riesgo de PE.
- **2º trimestre (20-22 SDG):** Valoración de placenta, inserción del cordón y líquido amniótico, valoración del crecimiento fetal y valoración de la anatomía fetal.
- **3er trimestre (>28 SDG):** Valoración de placenta y líquido amniótico, valoración del crecimiento fetal, revaloración de la anatomía fetal para descartar patología evolutiva y/o de posible aparición tardía (Gaccioli y col., 2018).

La evaluación en segundo y tercer trimestre incluyen el estudio de biometría fetal en donde se observan cortes estandarizados siguiendo los criterios de la ISUOG.

Las medidas que se toman son: Diámetro biparietal (DBP), perímetro cefálico (PC), perímetro abdominal (PA) y longitud del fémur (LF). A partir de la semana 24 se calcula el peso fetal estimado (PFE), para lo cual se utiliza del DBP, PC, PA y LA y se calcula el percentil de acuerdo con las curvas Hadlock ó se utiliza PA y LFD si las medidas cefálicas no son aplicables y el percentil según edad gestacional y sexo fetal. En caso de peso fetal inferior al percentil 10, se realiza estudio Doppler fetoplacentario mediante el índice de pulsatilidad (IP) de las arterias uterinas, arteria umbilical, arteria cerebral media y cálculo del cociente cerebroplacentario (Deter y col., 1984; Hadlock y col., 1985; Bennasae y Borobio, 2016; Gaccioli y col., 2018). En la RCIU asociada a insuficiencia placentaria se distinguen dos fenotipos clínicos diferentes dependiendo del momento de la gestación en el que se manifiesten; RCIU de inicio temprano (<34 SDG) y RCIU de inicio tardío ( $\geq 34$  SDG) (Cuadro 3). La restricción fetal temprana se refiere a los casos que se presentan antes de la semana 34 de gestación y se presenta entre el 20 y 30% de todos los casos de RCIU; esta se relaciona con PE hasta en el 50% de los casos y además se encuentra altamente asociada a insuficiencia placentaria severa e hipoxia fetal crónica.

**Cuadro 3. Diagnóstico y clasificación de la Restricción del Crecimiento Intrauterino**

| <b>RCIU de inicio temprano<br/>(&lt;34 SDG)</b>      | <b>RCIU de inicio tardío<br/>(≥ 34 SDG)</b>  |
|--|--|
| Alto grado insuficiencia placentaria                 | Bajo grado insuficiencia placentaria   |
| Hipoxia elevada: Adaptación cardiovascular sistémica | Hipoxia moderada: Adaptación cardiovascular central  |
| Feto inmaduro con alta tolerancia a hipoxia          | Feto maduro con baja tolerancia hipoxia  |
| Baja prevalencia                                     | Alta prevalencia   |
| Alta mortalidad y morbilidad                         | Baja mortalidad, pero es una causa importante de óbito fetal y alta morbilidad neurológica |
| Problema: Manejo                                     | Problema: Diagnóstico  |

Modificado de: Francesc Figueras Eduard Gratacós. Update on the Diagnosis and Classification of Fetal Growth Restriction and Proposal of a Stage-Based Management Protocol. Fetal Diagn Ther. 2014 Jan 23.

Un alto porcentaje de los casos tempranos se identifica en la ecografía fetal por alteraciones en el doppler de arteria umbilical (AU), en donde se muestra un flujo diastólico cero o ausente (Kady y Gardosi, 2004). Los casos tempranos también son clasificados y diagnosticados cuando se identifican al menos dos de los siguientes parámetros: I) PFE o PA por debajo del percentil 10, II) IP de la arteria uterina mayor al percentil 95, III) IP de la arteria umbilical mayor percentil 95. Los casos de manifestación temprana son casos graves, que se asocian con muerte fetal y generan prematuridad, con mal pronóstico.

Por lo tanto, el desafío principal en los casos de manifestación temprana es la monitorización y decisión de cuándo finalizar la gestación, con el objetivo de equilibrar mortalidad versus prematuridad. La RCIU de inicio tardío representa hasta el 80% de los casos y tiene una baja asociación con PE, estos presentan una insuficiencia placentaria leve y se clasifican y diagnostican cuando dos de los siguientes parámetros se presentan: I) Peso fetal estimado o PA <3er percentil, II) crecimiento fetal dos cuartiles menos a lo largo del monitoreo fetal y III) radio cerebroplacentario menor al percentil 5. En estos casos el doppler de arteria umbilical tiene baja sensibilidad para su detección.

A pesar de que los casos de inicio tardío tienen una manifestación más benigna que los casos de restricción temprana, los fetos afectados presentan riesgo alto de sufrimiento fetal antes del parto y acidosis neonatal (Eduardo Sepúlveda y col., 2014).

Los casos de RCIU también pueden ser clasificados de acuerdo con su severidad, la cual esta definida por el percentil fetal, se observan tres categorías:

- RCIU leve: entre percentil 5 y percentil 10
- RCIU Moderado: entre percentil 2 y percentil 5
- RCIU Severo: menor de percentil 2

Mientras que, a partir del análisis de las proporciones corporales fetales, la restricción del crecimiento intrauterino se clasifica como simétrica (tipo I) y asimétrica (tipo II), esta clasificación sugiere la causa de la restricción del crecimiento intrauterino.

- **Tipo I:** simétrico, precoz, proporcionado, incluye a los fetos normales o constitucionales y los patológicos secundarios a genopatías, infecciones virales o drogas.
- **Tipo II:** asimétrico, tardío, desproporcionado, asociado a hipoxemia de origen placentario (Ego y col., 2006).

Los fetos con restricción asimétrica están asociados a una mala función placentaria, que puede ser tanto de origen primario o por patologías maternas con alteraciones vasculares generalizadas que secundariamente comprometan la placenta alterando la nutrición fetal. Ejemplo de esto son la preeclampsia, hipertensión arterial crónica, diabetes mellitus pregestacional, enfermedades del colágeno. Esta situación es la causa más frecuente de restricción del crecimiento intrauterino en fetos con morfología normal (Donoso Bernal y Oyarzún Ebensperger, 2012)

El proceso de insuficiencia placentaria en los casos de RCIU genera un déficit de transporte de oxígeno y nutrientes hacia el feto y se activan una serie de

mecanismos de adaptación que aún no han sido del todo dilucidados, sin embargo, se ha reportado que existen cambios metabólicos, endocrinos, hematológicos, cardiovasculares y también en el comportamiento fetal. Entre los eventos hemodinámicos, se puede observar una vasodilatación de territorio cerebral que busca privilegiar flujo sanguíneo altamente oxigenado hacia el territorio encefálico. Paralelamente y conforme ocurre un mayor deterioro fetal, el flujo de la AU varía hasta llegar a un aumento de la resistencia mediante la disminución progresiva del flujo en diástole, que puede progresar hasta el flujo diastólico cero y finalmente en flujo diastólico reverso. Lo anterior genera la alteración de flujos venosos precordiales como ductus venoso y vena umbilical. La alteración en estos vasos pone el sello diagnóstico de disfunción cardíaca fetal en etapas avanzadas de deterioro fetal (Eduardo Sepúlveda y col., 2014; Figueras y Gratacós, 2014). De acuerdo con lo anterior a secuencia típica de alteraciones en los casos de deterioro fetal por hipoxemia placentaria es:

1. Aumento de resistencia placentaria, reflejado por un incremento en el IP de las arterias umbilicales. Cuando esto se hace extremo, aparece el fenómeno del flujo diastólico ausente y el evento final es la regurgitación del flujo umbilical durante la diástole (flujo diastólico reverso).
2. Paralelamente se va produciendo una redistribución de flujo sanguíneo fetal, privilegiando los “órganos nobles”, manifestado principalmente por vasodilatación de la arteria cerebral media.

3. La fase final de esta cadena es la alteración de flujos venosos fetales, que corresponde a la disminución en la en las zonas de las cavidades derechas por isquemia.
4. La recuperación de flujo cerebral normal es signo de muerte fetal inminente y corresponde a la pérdida de mecanismos de autorregulación de irrigación cerebral.

Es por eso que el manejo de los casos diagnosticados como RCIU, requiere una adecuada evaluación y monitoreo de la unidad de feto-placentaria que permita predecir tempranamente la evolución fetal y planificar mejor el momento de parto (Pattinson y col., 1994; Baschat y Weiner, 2000).

El pronóstico individual de cada caso de restricción del crecimiento intrauterino va en directa relación con la prematurez, grado y deterioro de la unidad feto-placentaria, dentro de los casos con peor pronóstico están aquellos casos asociados a insuficiencia placentaria severa de inicio precoz. Aquellos casos bajo percentil 10 constitucionales y aquellos de término con mínimo compromiso de la unidad fetoplacentaria, no muestran un pronóstico significativamente diferente al de recién nacidos adecuados para la edad gestacional (Donoso-Bernales y Oyarzún-Ebensperger, 2012).

## **D FISIOPATOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD PLACENTARIA**

La placenta es un órgano transitorio esencial para el mantenimiento del embarazo y para asegurar el crecimiento fetal. Su función principal es la transferencia de nutrientes y gases de la madre al feto y la eliminación de productos resultantes del metabolismo fetal. El flujo sanguíneo materno es transportado desde el útero a



través de las arterias espirales, irrigando y proporcionando nutrientes hacia el espacio intervelloso. Este órgano protege al feto de ataques del sistema inmunológico materno, funciona como una barrera protectora de patógenos y lleva a cabo funciones endocrinas al secretar hormonas asociadas al embarazo y factores de crecimiento (Soares y col., 1996; Moffett y col., 2006).

Dada la presencia de antígenos paternos en el feto y la parte fetal de la placenta, ambos son considerados como aloinjertos para los tejidos maternos. La desregulación del proceso de placentación puede ser determinante tanto para la madre como para el feto. Un crecimiento exacerbado puede llevar en ocasiones a invasividad y enfermedad trofoblástica en la madre, mientras que un desarrollo hipoplásico está asociado a hipertensión materna y RCIU (Cross, 2000; Regnault y col., 2002; Fisher, 2004).

## **1 Desarrollo placentario temprano**

El proceso de placentación comienza desde la adaptación temprana de preparación del endometrio para la implantación del blastocito. Para que el proceso de implantación ocurra es necesario que se lleve a cabo la decidualización del endometrio, la cual consiste en modificar las células estromales endometriales, glándulas uterinas, vasos y la población de células inmunes uterinas. En humanos, la decidualización es independiente de la presencia del blastocito y empieza en la fase secretora tardía del ciclo menstrual. Por otro lado, en el blastocito se originan las células trofoblásticas las cuales tienen una importante contribución en el desarrollo de los tejidos extraembrionarios (placenta y membranas) así como en procesos de desarrollo temprano de la gestación. La implantación del blastocito

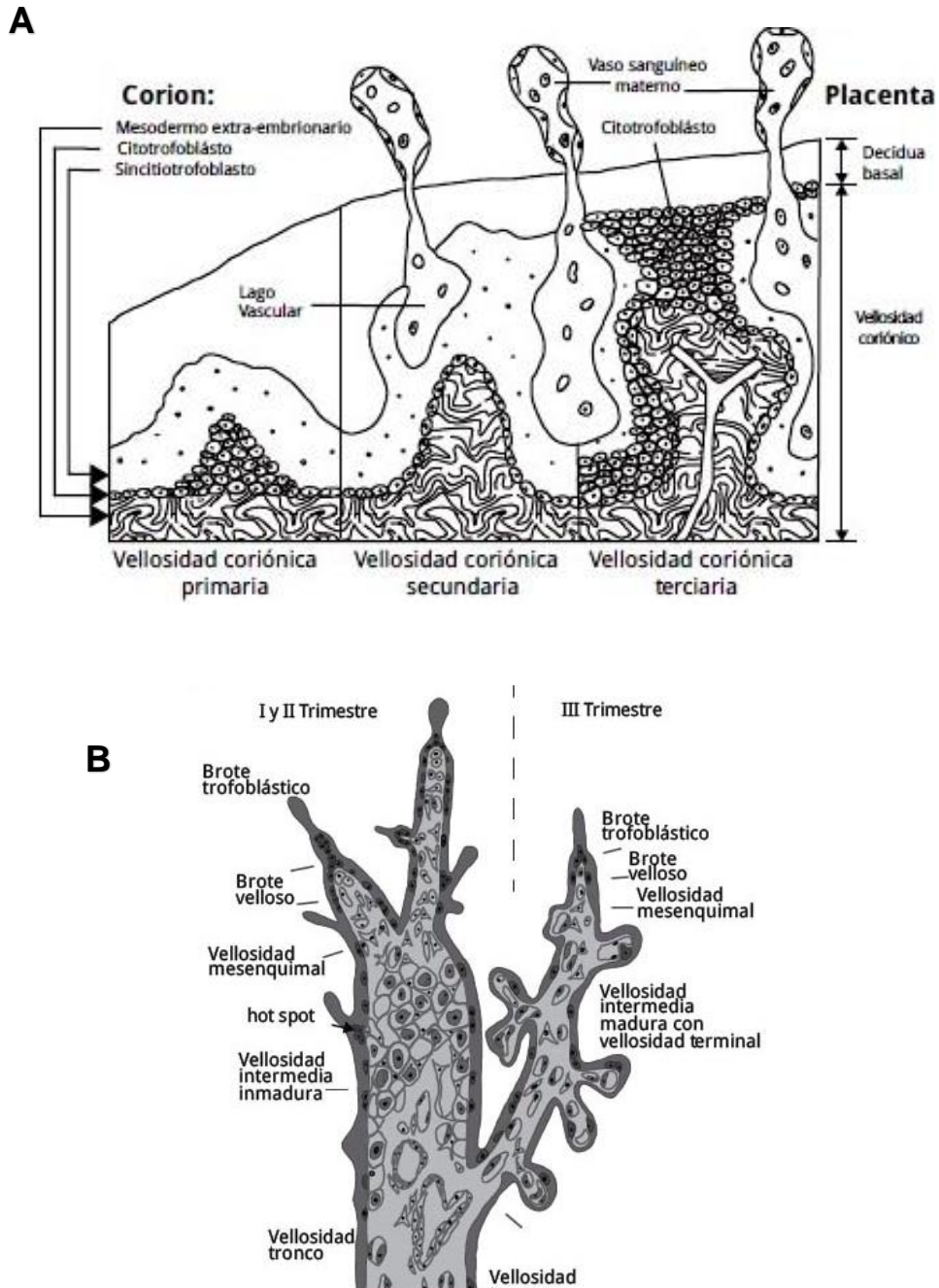
consiste en la interacción de las células del trofoblasto y el endometrio y se da en un periodo corto de tiempo denominado ventana de receptividad entre el día 20 y 24 del ciclo menstrual. Una vez implantado el blastocito, la capa de trofoblasto se diferencia en dos capas distintas: a) sincitiotrofoblásto (ST), que es la más externa; está formada por células multinucleares alineadas y hace contacto directo con la sangre materna; y, b) el citotrofoblasto (CT), que es la capa más interna compuesta por células mononucleares. Las células progenitoras de CT se fusionan unas con otras para formar el ST. Alrededor del día 14 después de la implantación, el CT da lugar a un grupo celular denominado trofoblasto extraveloso (EVT), estas células tienen un fenotipo invasivo necesario para llevar a cabo el proceso de remodelación de las arterias uterinas maternas (Valencia, 2014).

La diferenciación de CT a ST o EVT es controlada por diferentes agentes, tales como factores de transcripción, genes específicos, hormonas, factores de crecimiento, citocinas y niveles de oxígeno (Scifres y Nelson, 2009). Como resultado del proceso de implantación, proliferación y diferenciación del trofoblasto se forman las estructuras vellositarias de la placenta. El trofoblasto del blastocisto implantado, junto con el mesodermo extraembrionario localizado internamente a este, forman lo que se denomina corion. En los primeros 28 días de gestación, las vellosidades coriales evolucionan de vellosidades primarias a secundarias y posteriormente terciarias o mesénquimales. La vellosidad mesénquimal es la primera estructura morfológica para un efectivo intercambio materno-fetal de nutrientes, gases y sustancia residuales (Fig. 1A). En la semana 23 de gestación, el desarrollo de las vellosidades cambia de vellosidades mesénquimales a vellosidades intermedias

maduras y de estas brotan las vellosidades terminales las cuales son altamente efectivas para el intercambio difusional materno-fetal (Fig. 1B) (Castellucci y col., 2000).

El desarrollo placentario adecuado depende de un complejo proceso de formación de células del trofoblasto, de una correcta decidualización del endometrio materno, así como de una apropiada implantación e invasión trofoblástica, así mismo es indispensable una coordinada sucesión de eventos celulares para una adecuada remodelación de vasos espirales y establecer la circulación utero-placentaria (Valencia, 2014).

En un embarazo normal antes de la semana 9 de gestación la perfusión placentaria debe ser mínima, con el objeto de evitar que el producto en etapas tempranas sea expuesto a radicales libres de oxígeno y prevenir que haya rechazo potencial del alo-injerto placentario. A partir del segundo trimestre, la placenta requiere de un aumento al suministro de flujo sanguíneo materno. Este flujo es creado por la remodelación extensa de las arterias espirales que llevan la sangre directamente hacia las intervallosidades de la placenta; el proceso depende principalmente de la diferenciación de las células trofoblásticas de la placenta a EVT (Roberts y Escudero, 2012).



**Figura 1. Desarrollo de las vellosidades coriales en el proceso de placentación.** A) Desarrollo de las vellosidades primarias, secundarias y terciarias: B) Características histológicas de los distintos tipos de vellosidades y sus relaciones topográficas. La parte izquierda del diagrama representa el primer y segundo trimestre y la parte derecha el tercer trimestre. Los “hot spots” marcan los sitios en donde se desarrollan las futuras ramificaciones vellosas. Adaptado de: Valencia, J.A., 2014. Early placental development: pathophysiological aspects. Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia.

A partir de las 12 semanas, el EVT migra a la decidua y remodela de forma extensiva las arterias espirales hasta que se pierde la capa del músculo liso. El EVT o trofoblasto endovascular expresa marcadores de células endoteliales incluyendo a factores angiogénicos y sus receptores y forman un pseudo epitelio rodeado por vasos en parte fetales y en parte maternos (Redman y Sargent, 2005; Chappell y Morgan, 2006; Chelbi y Vaiman, 2008; Redman y Staff, 2015). Mientras que el trofoblasto endovascular migra a las arterias espirales maternas, los trofoblastos intersticiales invaden el estroma de la decidua, colonizan los vasos externos y se comunican con diversos tipos celulares como las células estromales de la decidua, macrófagos y células NK (Turco y Moffett, 2019).

Al final del proceso de placentación, se forma un espacio fetal que está en contacto directo con la sangre materna. Ambos subtipos de trofoblastos están involucrados de manera crítica en la transformación vascular de las arterias espirales a conductos dilatados sin capacidad de contraerse ante estímulos humorales o neurales que garantizan el flujo sanguíneo a una velocidad reducida hacia el espacio intervelloso. Esta disminución en el flujo es esencial para mantener la integridad de las vellosidades coriales y garantizar el tiempo necesario para llevar a cabo adecuadamente el intercambio de nutrientes, gases y productos de desecho (Knöfler y col., 2019). Por lo tanto los subtipos de trofoblastos juegan un papel muy importante en la expansión de la capacidad vascular de la circulación útero-placentaria (Redman y Sargent, 2005).

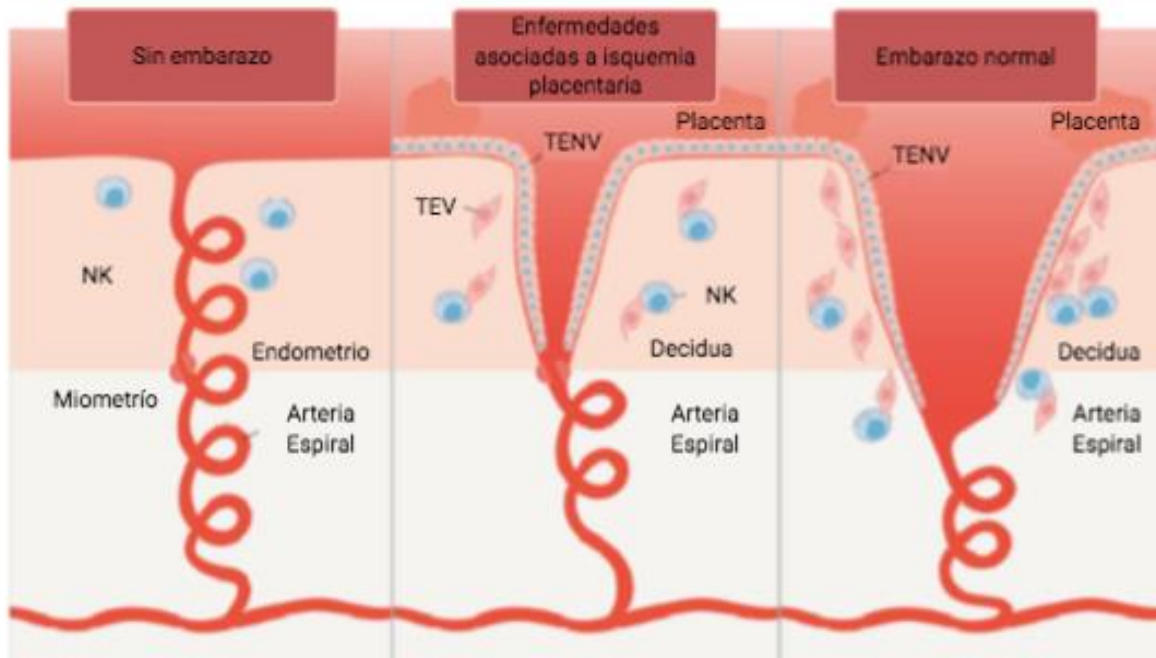
## **2 Alteraciones en el proceso de placentación**

Los defectos profundos en el proceso de placentación están asociados con un espectro amplio de síndromes obstétricos dentro de los que se incluyen PE, RCIU, parto pretermino con membranas intactas, abrupción placentaria y aborto espontaneo. Se ha propuesto que estos desordenes asociados a fallas en la placentación se caracteriza. principalmente por:

- 1) Diferentes grados de restricción fisiológica en proceso de transformación de las arterias espirales.
- 2) Presencia de lesiones arteriales en las zonas de unión entre el miometrio y placenta (Brosens y col., 2011).

Particularmente se ha demostrado que tanto en PE como en RCIU las modificaciones en las arterias espirales no ocurren de forma completa (Fig. 2). Las porciones terminales de los vasos no se dilatan de manera normal para el embarazo, la capa muscular no se remueve por completo y la modificación de las arterias no se extiende mas allá de la capa decidual, lo cual genera principalmente una resistencia al flujo sanguíneo, incremento en el daño a las vellosidades y baja disponibilidad de oxígeno. Lo anterior ocasiona la activación de la cascada de coagulación, oclusión vascular, aterosclerosis y zonas de infarto en la placenta, todos estos cambios son signos de isquemia placentaria y han sido reportados en ambas patologías.

Dentro de las consecuencias fisiopatológicas de la isquemia placentaria se observan los efectos locales en la placenta que incluyen estrés oxidativo y estrés en el retículo endoplásmico.



**Figura 2. Alteración en el proceso de remodelación de las arterias espirales en enfermedades asociadas a isquemia placentaria.** Durante el embarazo, las arterias espirales que subyacen a la placenta, que en las mujeres no embarazadas son típicamente pequeñas arterias musculares que contienen músculo liso y una lámina elástica interna, se someten a una remodelación fisiológica. Esto incluye la dilatación terminal, la pérdida de la lámina elástica interna y la pérdida de músculo liso. Este cambio se extiende al tercio interno del miometrio, resultando en la pérdida de una eliminación de músculo liso vascular en la unión decidual del miometrio. Este "esfínter" se propone como responsable de terminar el flujo sanguíneo en el momento de la menstruación. En la preeclampsia este proceso no está completo. La dilatación terminal no es tan extensa y la remoción del músculo liso no es completa y no se extiende más allá de la decidua. NK: Célula Natural Killer; TEV: Trofoblasto extravascular; TENV: Trofoblasto endovascular. Adaptado de: Roberts, J.M. Pathophysiology of ischemic placental disease. *Semin. Perinatol.* 2014.

Se ha propuesto que el estrés oxidativo es inducido en diferentes grados dependiendo del nivel de deterioro en la capacidad de invasión trofoblástica, mismo que a su vez se asocia con el momento de inicio de la enfermedad. Los casos de inicio temprano generalmente son los que presentan mayor severidad en los efectos tanto maternos como fetales que a su vez se asocian con una mayor deficiencia en la remodelación de las arterias y niveles de estrés oxidativo (Roberts, 2014) . Además, la inducción de estrés del retículo endoplásmico genera una disminución en la síntesis de proteínas, lo que finalmente conlleva a muerte celular e inflamación, lo anterior ha sido asociado principalmente con una disminución en el tamaño de la placenta y el origen de la restricción fetal (Burton y Jauniaux, 2004; Roberts, 2014). Por otro lado, los efectos sistémicos de la disfunción placentaria se limitan a manifestarse en PE y se ha propuesto que estos son generados en la circulación materna en respuesta a la liberación de factores placentarios y una predisposición materna al desarrollo de disfunción endotelial (Redman y Sargent, 2004). Sin embargo, la génesis sobre la alteración en el proceso de remodelación en las arterias espirales, así como la razón por la cual los efectos sistémicos de la isquemia placentaria se limitan a PE, aún son objeto de intensa investigación y no se ha llegado a un consenso en la respuesta a ello.

## **E TRANSCRIPTOMA PLACENTARIO E IMPLICACIONES EN PATOLOGÍAS PLACENTARIAS**

Las investigaciones centradas en el estudio de la circulación placentaria, el metabolismo, el fenotipo de la placenta, histopatología y el análisis del transcriptoma han demostrado con éxito la relación entre PE y RCIU con el deterioro de la función



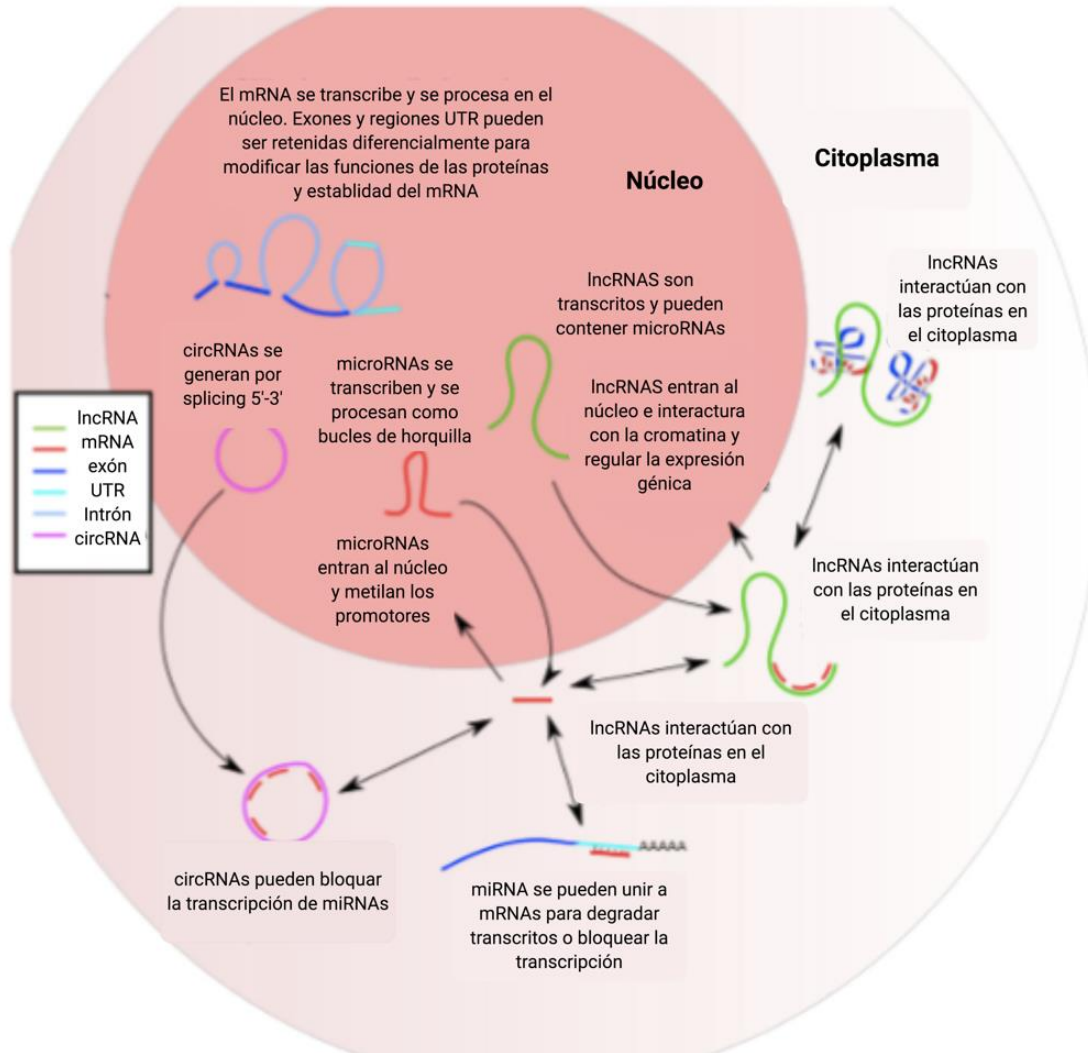
placentaria. En particular, el análisis del transcriptoma mediante técnicas de secuenciación de segunda generación o de microarreglos se ha utilizado para dilucidar posibles mecanismos moleculares subyacentes a la fisiopatología placentaria e incluso identificar biomarcadores derivados de la placenta que podrían refinar su predicción diagnóstica (Staff y col., 2013).

El transcriptoma se define como la colección completa de transcritos de RNA producidos a partir del genoma de una célula en cualquier estado. Las clases de RNA son diversas en cuanto a estructura, tamaño y función; además del RNAm, se encuentran RNAs no codificantes regulatorios en donde se incluyen microRNAs (miRNAs), RNAs largos no codificantes (lncRNAs) y RNAs circulares (circ-RNAs) (Fig. 3). Todas las clases de RNA se transcriben en el núcleo, pero pueden procesarse y exportarse de manera diferencial.

Los miRNAs y los lncRNAs pueden afectar a la regulación de los genes mediante alteración de la estructura de la cromatina y las modificaciones epigenéticas (Cox y col., 2015).

Particularmente los lncRNAs poseen un amplio rango de funciones moleculares, estos pueden actuar como andamios, moléculas de señalización y señuelos antisentido, lo que les proporciona la propiedad de actuar como molécula de interferencia transcripcional. Es común que los lncRNAs sean capaces de llevar a cabo más de una función. Los lncRNAs que funcionan como andamio son pueden unirse a otras proteínas y otros RNAs para formar largos complejos funcionales, tales como RNA telomerasas.

## Interacciones y funciones del transcriptoma celular



**Figura 3. Interacciones y funciones del transcriptoma celular.** Todas las clases de RNA se transcriben en el núcleo, pero pueden procesarse y exportarse de manera diferencial. Los microARN (miARN) y los ARN largos no codificantes (IncARN) también pueden importarse de vuelta al núcleo, donde pueden afectar a la regulación de los genes mediante la estructura de la cromatina y las modificaciones epigenéticas. Todavía se están dilucidando las funciones completas de los IncARNs y los ARNs circulares (circRNAs). Modificado de: Cox, B.; Leavey, K.; Nosi, U.; Wong, F.; Kingdom, J. Placental transcriptome in development and pathology: Expression, function, and methods of analysis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2015.

Adicionalmente los lncRNAs actúan como señales particulares de las distintas etapas del desarrollo. La transcripción de algunos lncRNAs puede también ser indicativa de silenciamiento génico o pueden actuar como marcadores de eventos transcripcionales. Otros lncRNAs actúan mediante la unión a una proteína blanco y evitan que estas lleven a cabo sus funciones normales, también son capaces de unirse y secuestrar pequeños RNAs reguladores incluyendo los miRNAs. A pesar de que se ha identificado un gran número de lncRNAs, la lista continúa creciendo, aunque las funciones de la mayoría de estos aún es desconocida. Estudios recientes han demostrado que estos transcritos tienen un rol importante en la regulación de la expresión génica en el desarrollo embrionario, fetal y placentario (McAninch y col., 2017).

La evaluación del transcriptoma en el desarrollo normal de la placenta es importante porque aún cuando los síntomas de las complicaciones del embarazo aparecen generalmente en la segunda mitad de la gestación, sus orígenes celulares y moleculares se establecen probablemente en el primer trimestre, además la placenta tiene un transcriptoma distinto que incluye muchas especies de RNAm y RNAnc que no están presentes en ningún otro órgano humano. (Vaiman et al., 2013) Este órgano también presenta un desafío único para el análisis del transcriptoma, ya que se trata de un órgano en desarrollo que se adapta constantemente al entorno materno, tanto en estados fisiológicos (por ejemplo, anemia materna o gran altitud) como en estados de enfermedad materna (obesidad, diabetes), placentaria (insuficiencia vascular uteroplacentaria) y fetal (hidrops no inmune, anemia hemolítica fetal).

Clásicamente, la placenta se divide en 3 etapas trimestrales igualmente espaciadas con relación al desarrollo fetal. Se ha tipificado el transcriptoma durante el desarrollo normal y se han identificado variaciones de expresión de las distintas clases de RNA dependiendo del momento de la gestación y el tipo celular que se esté evaluando (origen fetal vs origen materno) así como diferencias en patrones de expresión dependientes del sexo fetal (Cox y col., 2015).

En la última década las ciencias ómicas han sido utilizadas con la finalidad de comprender los distintos mecanismos fisiopatológicos que subyacen a la enfermedad placentaria. Los estudios ómicos hacen referencia al campo de las ciencias biológicas que tienen como objetivo la caracterización colectiva y la cuantificación de un conjunto de moléculas biológicas que proporcionan estructura funcionalidad y participan en las dinámicas de los organismos mediante el uso de metodologías como la secuenciación de segunda generación, espectrometría de masas de alta resolución y microarreglos. Estas plataformas generan inmensos volúmenes de datos en un periodo de tiempo condensado. En el caso de las enfermedades placentarias, la mayoría de los estudios se han llevado a cabo comparando muestras provenientes de casos con los padecimientos y comparándolos con muestras de un grupo control. Las diferencias moleculares han sido encontradas en la forma de mRNA, SNPs (Polimorfismos de un solo nucleótido), sitios de metilación de DNA, proteínas y metabolitos, además el uso e implementación de herramientas bioinformáticas avanzadas han permitido el descubrimiento de sub-tipos moleculares de la enfermedad, así como la identificación de mecanismos de regulación complejos y participación de genes

cuya desregulación está directamente implicada en los distintos fenotipos de PE y RCIU (Benny y col., 2020).

## **1 Caracterización del transcriptoma placentario en preeclampsia**

Desde la última década, el transcriptoma placentario en PE ha sido el más estudiado en comparación con otros síndromes obstétricos y la mayor parte de los sets de datos disponibles sobre tejido placentario proviene de estudios realizados en PE, los cuales comprenden principalmente información a nivel de RNA y más recientemente se ha caracterizado el perfil global de expresión de miRNAs y lncRNAs. Distintos grupos de investigación han comparado el perfil de expresión global mediante estudios de casos y controles y se han comparado los distintos fenotipos tanto en RCIU como en PE. Para esto se han utilizado diferentes metodologías (microarreglos ó RNA seq), diversas plataformas y distintas aproximaciones bioinformáticas, por lo que los resultados publicados no son del todo comparables, sin embargo, ha sido posible identificar genes clave y vías moleculares importantes implicadas en las fisiopatologías de los síndromes.

Enquobahrie y cols. (2008), publicaron los resultados de un estudio de casos y controles en población Sueca en donde analizaron la expresión de genes candidatos en tejido placentario utilizando una matriz de Operon Biotechnologies, en donde se encontró desregulación de 58 genes que participan principalmente en la respuesta inflamatoria, estrés oxidativo, crecimiento y desarrollo celular (Enquobahrie y col., 2008).

En ese mismo año Toft y cols., realizaron un análisis comparativo de la expresión génica de tejido placentario obtenido de pacientes con PE y pacientes recién

nacidos pequeños para edad gestacional en población de Tondheim, Noruega, con el objetivo de dilucidar las diferencias moleculares en ambas patologías mediante un ensayo de microarreglos. En este estudio no se reportaron diferencias significativas entre los grupos de incluidos (Toft y col., 2008).

Sitras y cols. en el 2009 reportaron que existen diferencias en el perfil de expresión génica en placentas de pacientes con PE severa en comparación con embarazo normo-evolutivo ellos utilizaron un microarreglo v 2.0 de 30 K humano (Applied Biosystems). Se realizó un análisis de expresión diferencial pareado entre los grupos de estudio, el cual permitió la identificación de 213 genes sobre-expresados y 82 sub-expresados en tejido placentario de pacientes con la enfermedad, así mismo, reportaron que existen diferencias significativas entre la expresión encontrada en los casos de aparición temprana y aparición tardía de PE, lo que sugiere que existen diferencias en la fisiopatología molecular de ambas (V. Sitras y col., 2009).

Esta tecnología también ha sido aplicada para evaluar la expresión génica en etapas tempranas de la enfermedad, S.A. Founds y cols (2009) analizaron vellosidades coriónicas obtenidas mediante amniocentesis entre la semana 10 y 12 de gestación en pacientes con fetos únicos con PE y sin la enfermedad, utilizando un GeneChip Affymetrix HG-U133 Plus 2.0. En este estudio se reportaron genes relacionados con procesos inflamatorios, inmunomodulación y movilidad celular, sin embargo, no se reportó evidencia de alteraciones en los genes involucrados en los procesos de hipoxia y estrés oxidativo. Dichos resultados evidencian que existe una desregulación genética desde etapas muy tempranas y en fases subclínicas de la enfermedad (Founds y col., 2009).

T. Várkonyi y cols. (2011) evaluaron el perfil de expresión génica mediante microarreglos en tejido placentario obtenido de mujeres mediante cesárea, con el objetivo de comparar las características entre las pacientes con aparición temprana de PE y síndrome de HELLP. El análisis de expresión diferencial demostró que los niveles de expresión de los genes en tejido placentario se correlacionan directamente con la edad gestacional y determinaron que 350 genes se encuentran diferencialmente expresados en PE y 554 en síndrome de HELLP, de los cuales 224 se encontraron desregulados de la misma manera en ambos casos, lo cual sugiere que existe un origen común en ambas condiciones (Várkonyi y col., 2011).

De forma similar Meng y cols. (2012) encontraron que existen 483 genes sobre-expresados y 456 genes sub-expresados en tejido placentario obtenido de pacientes de población china con PE en comparación con la expresión de tejido placentario de pacientes sin la enfermedad. Además realizaron un análisis de enriquecimiento funcional a partir de los genes diferencialmente expresados que permitió la identificación de vías de señalización importantes en el desarrollo de PE como Notch, Wnt, NF-Kb y TGF-B (Meng y col., 2012).

Lapaire y col., en 2012 analizaron RNA de vellosidades coriales de 9 pacientes con PE y 7 controles para estudiar la expresión de genes relacionados con enfermedad placentaria, utilizaron el Affymetrix Human gene array y reportaron diferencias en los genes relacionados con el metabolismo de la riboflavina, con el proceso de señalización de extravasación de leucocitos, señalización del NFKB y con la señalización de citocinas. Este estudio permitió la seleccionaron 14 biomarcadores potenciales relacionados con la presentación de PE, de estos 9 se encontrarón

sobre-expresados (*BHCG, HTRA4, CRHBP, LHD, QPCT, CD97, MNP19, ADAM2, INHBC*) y 5 inhibidos (*CCL3, NOX4, VCAM1, OSDF, CX3CR1*).

Recientemente se ha llevado a cabo el análisis de cohortes ampliadas utilizando sets agregados de datos de expresión génica global en tejido placentario de pacientes con PE. Vaiman y cols (2013), compararon los datos de expresión génica proveniente de diferentes sets de microarreglos con el objetivo de identificar los genes diferencialmente expresados en común entre los distintos estudios, así como los factores de transcripción que pudieran estar regulándolos. Ellos reportaron 67 genes expresados a la alta y 31 a la baja y los principales factores de transcripción identificados incluyen NFkB, CREB, ANRT, REEB1, SP1, y AP-2, MZF-1, NFYA, E2F1 y MEF2A, los cuales regulan actividades biológicas como respuesta a inflamación, daño al DNA, hipoxia y proliferación (Vaiman, Calicchio y Miralles, 2013).

Leavey y cols (2016) analizaron un total de 330 transcriptomas mediante análisis de clustering no supervisado, lo que permitió la identificación de tres tipos moleculares de la enfermedad, denominadas de acuerdo a las características clínicas y moleculares identificadas como; Materna (incluye placentas con menos daño y a término), Canónica (muestran características de daños placentario y características clínicas típicas de la enfermedad) e Inmunológica (incluye casos asociados a RCIU con evidencia de rechazo materno al alo-injerto fetoplacentario) (Leavey, Bainbridge y Cox, 2015).

## **2 Caracterización del transcriptoma placentario en restricción de crecimiento intrauterino**



El transcriptoma en RCIU de origen placentario también ha sido estudiado en casos con y sin PE. Sitras y cols. (2009), analizaron el transcriptoma placentario en 8 casos de RCIU no asociado a hipertensión y placentas normales mediante microarreglos e identificaron la expresión diferencial de genes principalmente asociados a inflamación, vías de señalización de citocinas y quimiocinas y metabolismo de gluco-corticoides (Vasilis Sitras y col., 2009).

Nishizawa y col., en 2011 analizaron la expresión de miRNAs con microarreglos en tejido placentario de 8 pacientes con PE severa, 8 RCIU y 8 controles. En este estudio se utilizó el Affymetrix Human Gene array y se encontró que los miRNAs sobre-expresados en las pacientes con RCIU se asocian principalmente con la regulación de factores antiangiogénicos, como sFlt-1 y ENG (Nishizawa y col., 2011).

Madeleneau y cols (2015) analizaron la expresión diferencial en pools de tejido placentario de RCIU y lo compararon con pools provenientes de embarazo normal, se utilizaron microarreglos de la plataforma de Nimblegen y se identificaron 636 genes diferencialmente expresados, de los cuales resaltan aquellos expresados a la baja que se encuentran involucrados principalmente en función mitocondrial y fosforilación oxidativa, además se encontró un grupo de genes sobre-expresados dentro de los que se incluyen *LEP*, *IGFBP1*, y *RBP4* (Madeleneau y col., 2015).

Majewska y cols (2019), analizaron mediante RNA-Seq el perfil de expresión de mensajero, realizaron la detección de variantes de un solo nucleótido (SNV) y la detección de sitios de edición de RNA en el transcriptoma de placentas afectadas por RCIU. Se identificaron 28 genes diferencialmente expresados (10 sobre- y 18 sub-expresados). El análisis de funcionalidad identificó que estos genes están

principalmente implicados en inflamación y alteraciones inmunológicas. Además se identificaron un total de 6533 SNVs, de las cuales se reconocieron 543 como sustituciones sin sentido con efectos funcionales (Majewska y col., 2019).

También se han llevado a cabo análisis de transcriptoma placentario en donde se comparan casos de PEG provenientes de embarazos con y sin hipertensión en cohortes ampliadas mediante métodos no supervisados, con el objetivo de identificar sub-clases de PEG con sospecha de RCIU. El grupo de trabajo de Gibbs y cols (2019) reportó tres subclases de PEG normotensos con diferentes características clínicas e histopatológicas que además resultaron ser comparables con transcriptomas de PE identificadas como “canónicas” e inmunológicas, lo cual sustenta la idea de que ambas patologías en sus fenotipos comparten mecanismos fisiopatológicos asociados a procesos de isquemia placentaria (Gibbs y col., 2019).

### **3 Determinación de cambios epigenéticos placentarios asociados a preeclampsia y restricción del crecimiento intrauterino**

Diversos estudios señalan que tanto la PE como la RCIU pueden ser una enfermedad multigénica en las que además se ha descrito la implicación de mecanismos epigenéticos muy importantes que se pueden ver afectados por factores ambientales asociados a dichas patologías (Cross, 2003). Cabe mencionar que en el desarrollo placentario un factor clave es la regulación epigenética en donde la metilación del ADN, la modificación de histonas, los ARN no codificantes (ARN nc) y la impronta genómica regulan la diferenciación de los tejidos extraembionarios y embrionarios, dichas regulaciones son tejido específicas, dependientes de la especie y de la etapa del desarrollo (Nelissen y col., 2011). La

desregulación epigenética en este tejido deteriora su tamaño y su función dando lugar al desarrollo de patologías placentarias (Nafee y col., 2008).

Por lo anterior, también se ha llevado a cabo la identificación de cambios epigenéticos asociados a PE y RCIU. Por ejemplo, se ha demostrado gran variación en los patrones de metilación en PE de inicio temprano pero no en la de inicio tardío, de los cuales resaltan la hipometilación en regiones asociadas a procesos de angiogénesis (Chu y col., 2014), mientras que en RCIU no se han reportado grandes cambios en los patrones de metilación a excepción de algunos genes improntados como H19 y otro grupo de genes dentro de los que se incluyen *HLDA2*, *NNAT*, *PEG10*, *CDKNC*, *MEST*, *MEG*, *GNAS*, *PLAGL1*, *GRB10*, *OSBPL5* y *ZNF33*.

Algunos estudios han reportado también expresión diferencial entre miRNAs en PE, por ejemplo Betoni y col. (2013) reportaron un meta-análisis de 8 estudios sobre caracterización de miRNAs en PE, en donde se encontraron 20 miRNAs diferencialmente expresados en PE que se relacionaron principalmente con muerte celular y apoptosis (Betoni y col., 2013).

También se han publicado algunos estudios en donde se reportan sets de lncRNAs diferencialmente expresados en PE. He y cols. (2013) identificaron un total 739 lncRNAs diferencialmente expresados de los cuales se validaron 3 como sobre-expresados; OC391533, LOC284100 y CEACAMP (He y col., 2013).

Por otro lado, los estudios a nivel de microRNAs y lncRNAs en RCIU son escasos y limitados, en el 2019 Azari y cols. analizaron la expresión de 4 lncRNAs específicos *NEAT1*, *TUG1*, *PANDA* y *MALAT1* en tejido placentario proveniente de embarazos complicados por RCIU, sin embargo no se reportaron diferencias

significativas en los valores de expresión de los blancos estudiados (Azari y col., 2019).

### III JUSTIFICACIÓN

La PE y la RCIU en conjunto representan la principal causa de morbi-mortalidad perinatal. Ambas patologías tienen graves consecuencias para la salud tanto de la madre como del feto, en particular cuando se manifiestan al mismo tiempo. Su disminución depende del mejoramiento de la calidad y de la intervención de los temprana, sin embargo, esto constituye un desafío ya que ambas se manifiestan a la mitad de la gestación. Además, estos síndromes complejos presentan un gran espectro de manifestaciones clínicas maternas y fetales, lo que representa un gran reto para llegar a consenso sobre su etiología, así como en la implementación de un diagnóstico temprano y estrategias de prevención. Ambas condiciones se consideran enfermedades placentarias que comparten un trasfondo común. Por lo anterior las líneas de investigación se han centrado en el estudio de los cambios placentarios en donde se aborda el análisis del transcriptoma. Las ciencias omicas se han utilizado para dilucidar posibles mecanismos moleculares subyacentes a la fisiopatología e incluso ha permitido la identificación de biomarcadores derivados de la placenta. La mayoría de estos estudios se han centrado en el análisis de expresión de mRNA y recientemente se ha comenzado a dilucidar la participación de los lncRNA como posibles reguladores de vías moleculares. Estos estudios se han llevado a cabo principalmente en PE, mientras que RCIU ha sido menos explorada y existen pocos estudios acerca de la participación de lncRNAs en placentas restringidas. Por otro lado, a pesar de que se considera que ambas patologías comparten características fisiopatológicas similares, aún existe una brecha por llenar en cuanto a la firma transcripcional compartida entre ellas.

## **IV OBJETIVOS**

### **A OBJETIVO GENERAL**

Comparar los perfiles de expresión génica placentaria incluidos los mRNA y lncRNA provenientes de embarazos complicados por PE, RCIU o ambos.

### **B OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar el perfil de expresión génica placentaria en PE, RCIU, Preeclampsia con Restricción del Crecimiento Intrauterino (PE-RCIU) y Embarazo Normal (EN).
2. Comparar el perfil de expresión génica placentaria entre las condiciones de estudio.
3. Realizar la caracterización funcional y molecular de los genes diferencialmente expresados entre los grupos de estudio.
4. Validar los resultados del perfil de expresión génica global en un set de genes diferencialmente expresados.

## **V MATERIALES Y MÉTODOS**

Este estudio fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética del Instituto Nacional de Perinatología en la Ciudad de México, número de Protocolo: 2230-10101-01-16, marzo 2016. Todas las participantes leyeron y firmaron un consentimiento informado por escrito antes del reclutamiento.

### **A DISEÑO EXPERIMENTAL**

Se realizó un análisis comparativo *in vitro*, en donde se determinó y se compararon los perfiles de expresión génica global en tejido placentario de cuatro grupos de estudio; Preeclampsia (PE), Restricción del Crecimiento Intrauterino (RCIU), PE-RCIU (Preeclampsia con Restricción del crecimiento Intrauterino) y Embarazo Normal (EN).

#### **1 Área de estudio**

Salud reproductiva. Servicio de Ginecología y Obstetricia (tocirugía, hospitalización y terapia intensiva).

#### **2 Definición de la población**

Mujeres con embarazo normo-evolutivo a término y embarazadas con PE y/o RCIU que acudieron al servicio de tococirugía del Instituto Nacional de Perinatología o del Hospital de Ginecología y Obstetricia del IMSS No. 4, Luis Castelazo Ayala, en la Ciudad de México. Todas las participantes de este estudio son de ascendencia latina y residentes de la Ciudad de México.

#### **3 Tamaño de muestra y definición de los grupos de estudio**

Se incluyó en el estudio a un total de 45 mujeres, las cuales se distribuyeron en 4 grupos:

- **Preeclampsia (PE)** con características severas diagnosticada de acuerdo con los criterios de la ACOG 2013 y siguiendo las directrices del boletín de práctica de la ACOG 2019 sobre PE; presión arterial sistólica  $\geq$  160 mmHg y/o presión arterial diastólica  $\geq$  110 mmHg, y al menos un criterio de severidad (deterioro de la función hepática, proteinuria  $>$  300 mg en 24 h, nuevo desarrollo de insuficiencia renal, trombocitopenia, alteraciones cerebrales y visuales).
- **Restricción del Crecimiento Intrauterino (RCIU)** sin complicaciones maternas, en el cual se incluyeron casos de embarazos con un peso fetal estimado por ultrasonido inferior al percentil 10, calculado mediante la curva de crecimiento intrauterino de Hadlock. Todos los casos presentaron antecedentes de alteraciones en el ultrasonido doppler para ducto venoso, istmo aórtico, y/o arterias uterinas, umbilicales y cerebral media.
- **Preeclampsia con Restricción del Crecimiento Intrauterino (PE-RCIU)** en el que se incluyeron los casos embarazos complicados por PE severa y con el diagnóstico de RCIU según los criterios mencionados anteriormente.
- **Embarazo Normal (EN)** se conformó por mujeres con embarazos sanos a término ( $>$ 37 semanas de gestación) que tuvieron recién nacidos de peso normal (peso al nacer entre el percentil 10 y el 90) por cesárea electiva o iterativa, sin complicaciones materno-fetales importantes.



Después del reclutamiento, se realizó un seguimiento hasta las seis semanas posparto para descartar el desarrollo de trastornos hipertensivos en tanto en las pacientes con embarazo normo-evolutivo, como en los casos con RCIU.

#### **4 Criterios de selección**

- **Criterios de inclusión:**

- a) Carta de consentimiento informado firmada por las pacientes reclutadas.
- b) Embarazadas con membranas intactas, sin evidencia clínica de infección intrauterina, con un solo embarazo y que resolvieron su embarazo por cesárea, sin evidencia de un parto activo.
- c) Pacientes diagnosticadas con PE y/o RCIU de acuerdo con los criterios de la ACOG.

- **Criterios de exclusión:**

- a) Pacientes afectadas con enfermedad hipertensiva del embarazo no-preecláptica.
- b) Pacientes con diabetes gestacional o pre-gestacional, cardiomiopatías, enfermedades inmunológicas y renales, tratamiento con drogas que podrían afectar el metabolismo o la inflamación durante el embarazo.
- c) Casos con anomalías fetales y genéticas documentadas.

- **Criterios de eliminación:**

- a) Pacientes en quienes la muestra placentaria resultó insuficiente, de baja calidad o se degradó en su procesamiento.

## **B MÉTODOS**

## **1 Recolección de datos y evaluación de los parámetros clínicos y bioquímicos**

Se realizó la evaluación y recolección de datos clínicos y antropométricos maternos, fetales y del recién nacido del expediente clínico de cada paciente.

## **2 Evaluación de las características placentaria**

Se realizó la evaluación morfológica incluyendo el tamaño y aspecto de placentas recolectadas inmediatamente después del alumbramiento. Los datos de la evaluación histopatológicas fueron recolectados del expediente clínico de las pacientes con patologías placentarias.

## **3 Obtención de muestra de tejido placentario**

Se recolectó tejido placentario de grosor completo, inmediatamente después de la cesárea. Se tomó una muestra de la región media de la placenta, cerca de la inserción del cordón umbilical. A continuación, se transportaron las muestras al laboratorio (a 4 °C) y en la primera hora las muestras se lavaron con buffer de lisis de eritrocitos 1X en frío y posteriormente con PBS 1X para eliminar la contaminación con la sangre materna.

## **4 Extracción de RNA**

Se realizó la extracción de RNA a partir de 30-100 mg de tejido fresco de la placenta. Estas fueron homogenizadas con un equipo LabGen 7 de Cole Parmer ® y el proceso de extracción se realizó con el RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit® (Qiagen, Valencia, CA, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante.

## **5 Cuantificación y determinación de pureza de RNA**

La pureza y la concentración del RNA total se midieron mediante un espectrofotómetro NanoDrop® UV-Vis (Thermo Fisher Scientific Inc, Wilmington, DE, USA). Se determinaron los ratios 260/280 y 260/230 para descartar la presencia de contaminantes.

## **6 Determinación del índice de integridad del RNA**

El Índice de Integridad del RNA o RIN (RNA Integrity Number) se analizó mediante electroforesis capilar con el Bioanalizador Agilent 2100 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) (Fig. 4). Todas las muestras utilizadas en este estudio cumplieron con un RIN  $\geq 8$ .

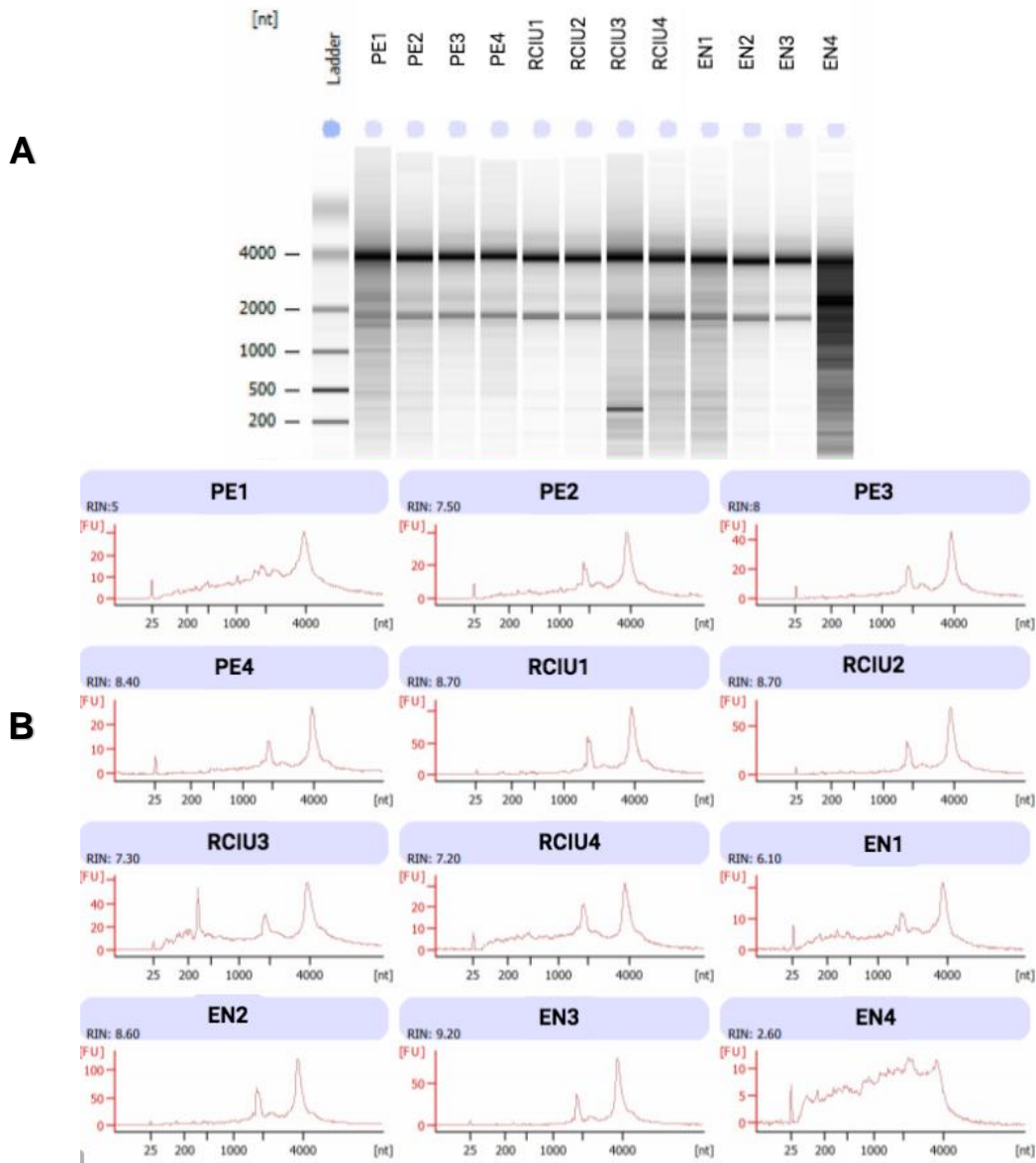
Los RNA obtenidos fueron almacenados a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. Tanto el muestreo como la extracción de RNA fueron realizados por el mismo personal y con la misma metodología para evitar sesgos de expresión génica por cambios metodológicos.

Restricción del crecimiento Intrauterino; RIN: RNA integrity Number.

## **7 Determinación del perfil de expresión génica global en los grupos de estudio**

### **a Microarreglos de expresión génica**

Se analizaron un total de 29 muestras RNA de tejido placentario; PE(n=7), RCIU (n=7), PE-RCIU (n=6) y EN (n=8). El análisis de la expresión génica se realizó con microarreglos de un solo color mediante la plataforma Agilent SurePrint G3 Human Gene Expression v3 8 x 60K (G4851C, Agilent Technologies). Los chips se analizaron con el escáner de microarreglos Agilent G2565BA.



**Figura 4. Electroferograma representativo de la evaluación de la integridad del RNA de tejido placentario en los grupos de estudio.** A) Representación gráfica de la integridad obtenida, en donde se observan las sub-unidades ribosomales 18s y 20s; Carril 1-4: PE, carril 5-8: RCIU, carril 8-12: EN. B) Se muestran los valores del RIN de un conjunto de muestras analizadas mediante el sistema de electroforesis capilar. EN: Embarazo Normal; PE: Preeclampsia; RCIU: Restricción del crecimiento Intrauterino; RIN: RNA integrity Number.

La intensidad relativa del objetivo se calculó utilizando el software de análisis de imágenes Agilent Feature Extraction (AFE) versión 11.5.1. (Agilent Technologies). Los procedimientos de la técnica se llevaron a cabo según las instrucciones del fabricante por el mismo personal, utilizando reactivos y chips del mismo lote. Los datos de los arreglos han sido depositados en GEO con el número GSE147776.

## **b Análisis de datos de expresión**

### **1) Normalización y pre-procesamiento de los datos**

Se empleó el software AFE para extraer los valores de intensidad de cada conjunto de sondas de los chips de Agilent. El análisis bioinformático de los microarreglos se llevó a cabo con Bioconductor dentro del entorno computacional R. Inicialmente, se eliminaron las sondas no detectadas, evaluadas por el AFE (Ej., `glsGeneDetected = 0`). Posteriormente, los valores de intensidad crudos se transformaron en  $\text{Log}_2$ , se realizó corrección de fondo y se normalizaron por cuantiles mediante el algoritmo del análisis robusto de matrices (RMA por sus siglas en inglés). Los valores de intensidad normalizados a nivel de sonda se agruparon para obtener un nivel de expresión único por transcrito. Por último, para conservar la mayor parte de la variabilidad, se filtraron los transcritos que estaban por debajo de la mediana de los rangos intercuantílicos (RIQ).

### **2) Análisis de expresión diferencial**

Para el análisis de expresión diferencial, se utilizó el algoritmo de LIMMA (Linear model for microarray analysis) sobre la base de datos de expresión normalizados e integrados. Se empleó el método de Benjamini y Hochberg para corregir los valores  $P$  por FDR (False Discovery Rate) para las pruebas de hipótesis múltiple. Los genes

con cambio de expresión  $> 1,5$  y  $FDR < 0,1$  se consideraron como diferencialmente expresados. Se realizó un análisis de correlación de Pearson con los valores de expresión de los genes seleccionados y se llevaron a cabo todas las posibles comparaciones por pares entre los grupos de estudio. Las correlaciones con  $p < 0.05$  se consideraron significativas.

### **3) Anotación funcional y clasificación molecular de los GDE**

Se identificaron los términos GO (Gene Ontology), significativamente sobre-representados de los genes con expresión diferencial mediante el programa Enrichr con las anotaciones funcionales de las librerías de KEGG Human, GO Biological Proceses y GO molecular Function (<https://amp.pharm.mssm.edu/Enrichr/>).

## **8 Ensayos de validación**

Para validar los resultados de los ensayos de expresión global con microarreglos, se seleccionaron diez genes de la lista principal de expresión diferencial entre los grupos de estudio y se analizaron mediante RT-qPCR. En el análisis se incluyeron aquellos genes con el mayor cambio de expresión y/o participación en los 20 principales procesos biológicos, moleculares o patológicos (Cuadro 4).

### **a Síntesis de cDNA**

Para llevar a cabo los ensayos se sintetizó el cDNA a partir de 1,5 mg de RNA total con el kit SuperScript™ III Reverse Transcriptase (Invitrogen™, Carlsbad, CA, EE.UU), para ello se utilizaron oligos DT y se llevo a cabo la metodología de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

### **b RT-qPCR**

Todas las reacciones de RT-qPCR se llevaron a cabo con sondas TaqMan y el TaqMan Universal Máster Mix (Applied Biosystems, Life technologies, Foster City, CA, EE. UU.), en placas de 96 pozos en el sistema de PCR en tiempo real CFX-96 (BIO-RAD, Hércules, CA, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante. La expresión relativa (RQ) y la cuantificación de la expresión ( $2^{-\Delta Ct}$ ) de los genes fueron normalizadas utilizando como control constitutivo y endógeno el gen de gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH). Se analizó la cuantificación de la expresión a un total de 45 muestras (RCIU n = 12; PE n = 11; PE-RCIU n = 11; EN n = 11) y se utilizó la prueba U de Mann-Whitney (para variables cuantitativas con distribución anormal) para comparar de los valores de expresión entre los grupos clínicos y el grupo control.

**Cuadro 4. Genes analizados en los ensayos de validación por RT-qPCR**

| <b>Gen</b>             | <b>Descripción</b>   | <b>Taqman ID</b> |
|------------------------|--|------------------|
| <b><i>IGFBP1</i></b>   | Proteína 1 de unión al factor de crecimiento insulínico            | Hs00236877_m1    |
| <b><i>FGG</i></b>      | Sub-unidad gamma de fibrinógeno                                    | Hs00241037_m1    |
| <b><i>FBXO2</i></b>    | Proteína F-Box 2   | Hs00201792_m1    |
| <b><i>EGFR-AS1</i></b> | Long non-coding RNA-antisentido 1                                  | Hs04332527_m1    |
| <b><i>CPEB1</i></b>    | Proteína 1 citoplasmática de unión a elementos poliadenilados      | Hs00952081_m1    |
| <b><i>CHST2</i></b>    | Carbohidrato sulfotransferasa 2                                    | Hs00358839_g1    |
| <b><i>CD40LG</i></b>   | CD40 Ligando   | Hs00163934_m1    |
| <b><i>CATSPER1</i></b> | Canal catiónico asociado a esperma 1                               | Hs00364950_m1    |
| <b><i>CABYR</i></b>    | Proteína de unión a calcio dependiente de fosforilación a tirosina | Hs00971710_g1    |
| <b><i>STAR</i></b>     | Proteína reguladora aguda esteroideogénica                         | Hs00986559_g1    |



## **VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **A PARÁMETROS CLÍNICOS, ANTROPOMÉTRICOS E HISTOPATOLÓGICOS DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO**

En este estudio se analizó y se comparó el perfil de expresión génica placentaria en embarazos complicados por PE, RCIU y PE con RCIU. Estos desórdenes representan dos de las causas principales de morbi-mortalidad perinatal (Adams y col., 2014) y además se asocian con el desarrollo de enfermedades metabólicas y cardiovasculares en etapas posteriores de la vida, tanto de la madre como del feto (Ananth y Vintzileos, 2011; Calicchio y col., 2013; Tay y col., 2018). Ambas patologías se encuentran dentro del espectro denominado como isquemia placentaria y comparten un origen fisiopatológico similar, donde un proceso de placentación deficiente derivado de una reducción en la capacidad invasiva del trofoblasto, genera una remodelación incompleta de las arterias espirales, lo que finalmente conlleva al desarrollo de una insuficiencia placentaria (Roberts, 2014).

La placenta es la interfase primaria entre el feto y la madre, cuya función principal es el transporte de nutrientes, respiración y eliminación de desechos. Este órgano transitorio también se encuentra a cargo de diversas funciones, incluyendo la modulación del sistema inmune y actividad endócrina mediante la síntesis de diversas hormonas que regulan la evolución y mantienen la homeostasis durante el embarazo (Soares y col., 1996; Moffett y col., 2006; Soares y col., 2017; Turco y Moffett, 2019).

El presente estudio incluyó un total de 45 mujeres embarazadas con membranas intactas, embarazo único, sin evidencia clínica de infección intrauterina y resolución

por cesárea sin evidencia de trabajo de parto, las cuales fueron distribuidas en cuatro grupos de estudio: Restricción del Crecimiento Intrauterino (RCIU, n=12), PE con criterios de severidad (PE, n=11), PE con RCIU (PE-RCIU, n=11) y Embarazo Normal (EN, n=11), este último grupo se constituyó por mujeres con embarazos a término sin complicaciones, que tuvieron recién nacidos de peso normal. El diagnóstico de la enfermedad se realizó según los criterios del ACOG 2018. Los datos clínicos y antropométricos de los grupos de estudio están representados en las Cuadros 5 y 6. No se observaron diferencias entre los grupos de estudio en cuanto a la edad materna, el índice de masa corporal pregestacional (IMCp), la ganancia de peso durante la gestación (GP) y el recuento de plaquetas ( $P > 0.05$ ). Las pruebas de laboratorio de proteína en orina de 24 h, urea, creatinina y ácido úrico, así como las mediciones de la presión sanguínea concuerdan con el diagnóstico de los grupos PE y PE-RCIU. Además, todos los casos de RCIU se encontraron en el percentil  $\leq 3$  de Hadlock al momento del diagnóstico y presentaron alteraciones de la onda Doppler en las arterias uterinas, umbilicales y/o cerebrales medias en el último ultrasonido.

Por otro lado, la nuliparidad entre las mujeres fue significativamente mayor en el grupo PE-RCIU en comparación con EN (Cuadro 5, Cuadro 6,  $P < 0,05$ ). El peso y la talla de los recién nacidos, así como la edad gestacional al nacer, fue significativamente diferente en todos los grupos de estudio en comparación con EN ( $P < 0.05$ ), no se observaron diferencias en las frecuencias del sexo biológico de los recién nacidos entre los grupos de estudio.

**Cuadro 5. Características maternas y neonatales de los grupos de estudio incluidos en los ensayos de transcriptoma placentario**

|  | <b>RCIU<br/>(n = 7)</b> | <b>PE<br/>(n = 7)</b> | <b>PE-RCIU<br/>(n = 6)</b> | <b>EN<br/>(n = 8)</b> |
|--|-------------------------|-----------------------|----------------------------|-----------------------|
| <b>Edad Materna (Años)</b>                 | 26 ± 1.4                | 30.57 ± 1.5           | 30.33 ± 2.6                | 30.57 ± 6.18          |
| <b>IMCp (kg/m<sup>2</sup>)</b>             | 26.4 ± 1.7              | 29.9 ± 1.4            | 25.36 ± 1.66               | 24.3 ± 0.9            |
| <b>GP (kg)</b>                             | 7.4 ± 2.4               | 6.42 ± 1.3            | 9.5 ± 1.79                 | 8.3 ± 1.6             |
| <b>Nuliparidad (%)</b>                     | 50                      | 14                    | 50                         | 0                     |
| <b>PAS (mmHg)</b>                          | 108.4 ± 5.1             | 167.8 ± 3.1*          | 171.6 ± 3.8*               | 103.5 ± 3.8           |
| <b>PAD (mmHg)</b>                          | 71.14 ± 5.3             | 112.14 ± 2.85*        | 116.6 ± 1.9*               | 68 ± 1.75             |
| <b>Proteína de 24 h (mg/dL)</b>            | ND                      | 370.03 ± 79.52        | 1296.8 ± 407.6             | ND                    |
| <b>Urea (mg/dL)</b>                        | 16.22 ± 2.5             | 18.95 ± 2.8*          | 25.49 ± 4.7                | 13.2 ± 1.6            |
| <b>Creatinina (mg/dL)</b>                  | 0.51 ± 0.03             | 0.58 ± 0.39           | 0.74 ± 0.05*               | 0.54 ± 0.41           |
| <b>AU (mg/dL)</b>                          | 4.13 ± 0.9              | 5.12 ± 0.6*           | 5.15 ± 2.3*                | 3.55 ± 1.13           |
| <b>Hb (g/dL)</b>                           | 12.88 ± 0.63            | 13.25 ± 0.45          | 14.4 ± 0.44*               | 12.98 ± 0.36          |
| <b>Plaquetas (× 10<sup>9</sup>/L)</b>      | 240.42 ± 10.26          | 201.57 ± 17.59        | 252.83 ± 40.85             | 286.16 ± 43.91        |
| <b>Inicio temprano (&lt; 34 SDG), (%)</b>  | 14                      | 85                    | 100                        | NA                    |
| <b>Edad gestacional al Nacer (Semanas)</b> | 38.5 ± 0.48             | 32.9 ± 0.98*          | 32.01 ± 1.15*              | 38.5 ± 0.48           |
| <b>Percentil de Hadlock ⊥</b>              | 3.1 ± 0.85              | 37.2 ± 17.5           | 3 ± 0.85                   | NA                    |
| <b>Peso RN (g)</b>                         | 2175.5 ± 241.3*         | 1958 ± 176.79*        | 1136.66 ± 176.79*          | 3167 ± 130.69         |
| <b>Talla RM (cm)</b>                       | 45 ± 1.75*              | 43.71 ± 1.83*         | 37.5 ± 1.6*                | 49.21 ± 0.63          |
| <b>Sexo RN (M/F)</b>                       | 4/3                     | 4/3                   | 1/5                        | 5/2                   |

Los datos se presentan como Media ± SE (Error Estándar), a menos que se indique lo contrario. ⊥ Percentil de Hadlock para fetos al momento del diagnóstico. PAD, Presión arterial diastólica; F, Femenino; RCIU, Restricción del crecimiento intrauterino; GP, Ganancia de peso durante la gestación; Hb, Hemoglobina; M, Masculino; NA, No aplicable; ND, No determinado; EN, Embarazo normal; IMCp, Índice de masa corporal pregestacional; PE, Preeclampsia; PE-RCIU, Preeclampsia con restricción del crecimiento intrauterino; PAS, Presión arterial sistólica; AU, Ácido úrico. \* Valor p < 0,05 comparado con un embarazo normal. Prueba T de Student (para variables cuantitativas), prueba U de Mann-Whitney (para variables cuantitativas no distribuidas normalmente) o X<sup>2</sup> (para variables binarias).

**Cuadro 6. Características maternas y neonatales de los grupos de estudio incluidos en los ensayos de validación**

|  | <b>RCIU<br/>(n = 12)</b> | <b>PE<br/>(n = 11)</b> | <b>PE-RCIU<br/>(n = 11)</b> | <b>NP<br/>(n = 11)</b> |
|--|--------------------------|------------------------|-----------------------------|------------------------|
| <b>Edad Materna (Años)</b>                 | 26.8 ± 1.8               | 30.4 ± 1.4             | 32.2 ± 2.1                  | 32.4 ± 2               |
| <b>IMCp (kg/m<sup>2</sup>)</b>             | 26 ± 1.26                | 39.9 ± 1.06            | 25.9 ± 1.3                  | 27.5 ± 1.2             |
| <b>GP (kg)</b>                             | 8.19 ± 1.52              | 6.3 ± 1.3              | 8,19 ± 1.5                  | 9.6 ± 1.6              |
| <b>Nuliparidad (%)</b>                     | 25                       | 9.1                    | 36.3 *                      | 0                      |
| <b>PAS (mmHg)</b>                          | 108.8 ± 3.5              | 167 ± 2.5 *            | 171.3 ± 3.07 *              | 105.6 ± 2.7            |
| <b>PAD (mmHg)</b>                          | 72.3 ± 3.6               | 112.3 ± 1.8 *          | 113.9 ± 2.7 *               | 68.8 ± 1.2             |
| <b>Proteína de 24 h (mg/dL)</b>            | ND                       | 479.4 ± 132.6          | 1287.7 ± 279.8              | ND                     |
| <b>Urea (mg/dL)</b>                        | 18.1 ± 1.8               | 27.9 ± 7.8 *           | 24.4 ± 3.3 *                | 14.2 ± 1.3             |
| <b>Creatinina (mg/dL)</b>                  | 0.51 ± 0.02              | 0.73 ± 0.9             | 0.75 ± 0.4 *                | 0.55 ± 0.2             |
| <b>AU (mg/dL)</b>                          | 3.9 ± 0.8                | 5.9 ± 0.5 *            | 5.5 ± 0.57 *                | 3.8 ± 0.25             |
| <b>Hb (g/dL)</b>                           | 13 ± 0.38                | 13.3 ± 0.32            | 14.3 ± 0.3                  | 13.2 ± 0.3             |
| <b>Plaquetas (x 10<sup>9</sup>/L)</b>      | 234.9 ± 14.7             | 214.3 ± 20.9           | 258.9 ± 29.1                | 261.7 ± 26.5           |
| <b>Inicio temprano (&lt; 34 SDG), (%)</b>  | 8.3                      | 75                     | 100                         | NA                     |
| <b>Edad gestacional al Nacer (Semanas)</b> | 36.8 ± 0.58 *            | 33.6 ± 0.87 *          | 32.3 ± 0.78 *               | 38.7 ± 0.3             |
| <b>Percentil de Hadlock ⊥</b>              | 3.1 ± 0.6                | 28.9 ± 13.2            | 3 ± 0.5                     | NA                     |
| <b>Peso RN (g)</b>                         | 2175.3 ± 144.87 *        | 2088 ± 163.3 *         | 1191.7 ± 125.6 *            | 33175 ± 138.9          |
| <b>Talla RM (cm)</b>                       | 45 ± 1.05 *              | 43.7 ± 1.3 *           | 37.9 ± 1.1 *                | 49.7 ± 0.5             |
| <b>Sexo RN (M/F)</b>                       | 6/6                      | 6/5                    | 4/7                         | 6/5                    |

Los datos se presentan como Media ± SE (Error Estándar), a menos que se indique lo contrario. ⊥ Percentil de Hadlock para fetos al momento del diagnóstico. PAD, Presión arterial diastólica; F, Femenino; RCIU, Restricción del crecimiento intrauterino; GP, Ganancia de peso durante la gestación; Hb, Hemoglobina; M, Masculino; NA, No aplicable; ND, No determinado; EN, Embarazo normal; IMCp, Índice de masa corporal pregestacional; PE, Preeclampsia; PE-RCIU, Preeclampsia con restricción del crecimiento intrauterino; PAS, Presión arterial sistólica; AU, Ácido úrico. \* Valor p < 0,05 comparado con un embarazo normal. Prueba T de Student (para variables cuantitativas), prueba U de Mann-Whitney (para variables cuantitativas no distribuidas normalmente) o X<sup>2</sup> (para variables binarias).

Los informes de histopatología placentaria provenientes de los casos de RCIU, PE y PE-RCIU incluidos en el presente estudio mostraron signos de insuficiencia placentaria con la presencia de zonas de infarto, hipoplasia de las vellosidades distales, hipermaduración de las vellosidades placentarias, nudos sincitiales, y/o depósitos de fibrina perivellosos (Cuadro 7).

No se encontraron diferencias en la frecuencia de los hallazgos histopatológicos entre las patologías estudiadas. Las características clínicas e histopatológicas descritas anteriormente de los grupos de PE y/o RCIU demuestran evidencia de disfunción placentaria y no se observaron diferencias en variables confusoras como la edad materna, IMCp y GP. Además, es importante resaltar que las muestras placentarias fueron obtenidas de embarazos cuya resolución fue llevada a cabo mediante cesárea iterativa, lo anterior con el objetivo de evitar cambios en expresión génica inducidos por el trabajo de parto.

## **B PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA PLACENTARIA Y ANOTACIÓN FUNCIONAL EN PE Y RCIU**

Existen una gran cantidad de reportes en la literatura que demuestran que los cambios histopatológicos, celulares y moleculares, incluyendo variaciones en la expresión génica, generan alteraciones funcionales en la placenta que están directamente implicados en la fisiopatología tanto de PE como de RCIU (Gilbert y col., 2008; Ananth, 2014; Mifsud y Sebire, 2014; Cox y col., 2015). En la última década, las ciencias ómicas como la genómica, epigenómica, transcriptómica, proteómica y metabolómica han permitido la caracterización molecular de los diferentes mecanismos fisiopatológicos que subyacen estas condiciones.

**Cuadro 7. Histopatología placentaria en preeclampsia y restricción del crecimiento intrauterino**

| Histopatología Placentaria              | RCIU<br>%(n/n) | PE<br>%(n/n) | PE-RCIU<br>%(n/n) | P              |                     |                   |
|---|----------------|--------------|-------------------|----------------|---------------------|-------------------|
|   |                |              |                   | RCIU vs.<br>PE | RCIU vs.<br>PE-RCIU | PE vs.<br>PE-RCIU |
| Hypoplasia de las vellosidades distales | 40 (4/10)      | 75 (6/8)     | 100 (3/3)         | 0.5271         | 0.7055              | 0.3173            |
| Zonas de infarto                        | 80 (8/10)      | 100 (8/8)    | 100 (3/3)         | 1              | 0.1317              | 0.1317            |
| Patrones de maduración hipervelosa      | 50 (5/10)      | 87.5 (7/8)   | 100 (3/3)         | 0.5637         | 0.4795              | 0.2059            |
| Nodos sincitiales                       | 0 (0/10)       | 25 (2/8)     | 66.7 (2/3)        | 0.1573         | 0.1573              | 1                 |
| Depósitos perivellosos de fibrina       | 30 (3/10)      | 25 (2/8)     | 0 (0/3)           | 0.6547         | 0.08326             | 0.1573            |

Diversos estudios han identificado genes placentarios, cuya variación en la expresión está implicada en el desarrollo de los distintos fenotipos de PE y RCIU, por lo que representan blancos de interés para diagnóstico temprano, dentro de los cuales se incluyen *VEGF*, *sFlt1*, *ENG*, *EDN1*, *IGFBP1* y *LEP* (McCarthy y col., 2007; Nishizawa y col., 2007; Enquobahrie y col., 2008; Vasilis-Sitras y col., 2009; Triche y col., 2014).

Por otro lado, el desarrollo de herramientas bioinformáticas avanzadas ha permitido nuevas clasificaciones moleculares de estas condiciones mediante meta-análisis aplicado sobre grupos de datos agregados de diferentes poblaciones (Vásárhelyi y col., 2006; Vaiman, Calicchio y col., 2013; Leavey y col., 2015; Leavey y col., 2016; Gibbs y col., 2019; Benny y col., 2020). Sin embargo, el número de publicaciones en donde se reporta la comparación de los perfiles de expresión global placentaria entre PE y RCIU es limitado, y además es importante destacar que la contribución de lncRNAs en el desarrollo de enfermedad placentaria no ha sido explorada en su totalidad.

En este estudio se determinó el perfil de expresión génica global (mRNA y lncRNA) mediante microarreglos en 29 muestras de tejido placentario, que representan las diferentes condiciones clínicas definidas en este estudio. Los resultados del análisis mostraron un total de 463 transcritos diferencialmente expresados entre todas las comparaciones realizadas a partir de las diferentes agrupaciones clínicas. La mayor variación en la expresión génica se identificó en el grupo de RCIU en comparación con EN y con un total de 461 transcritos con expresión diferencial. De éstos, 314

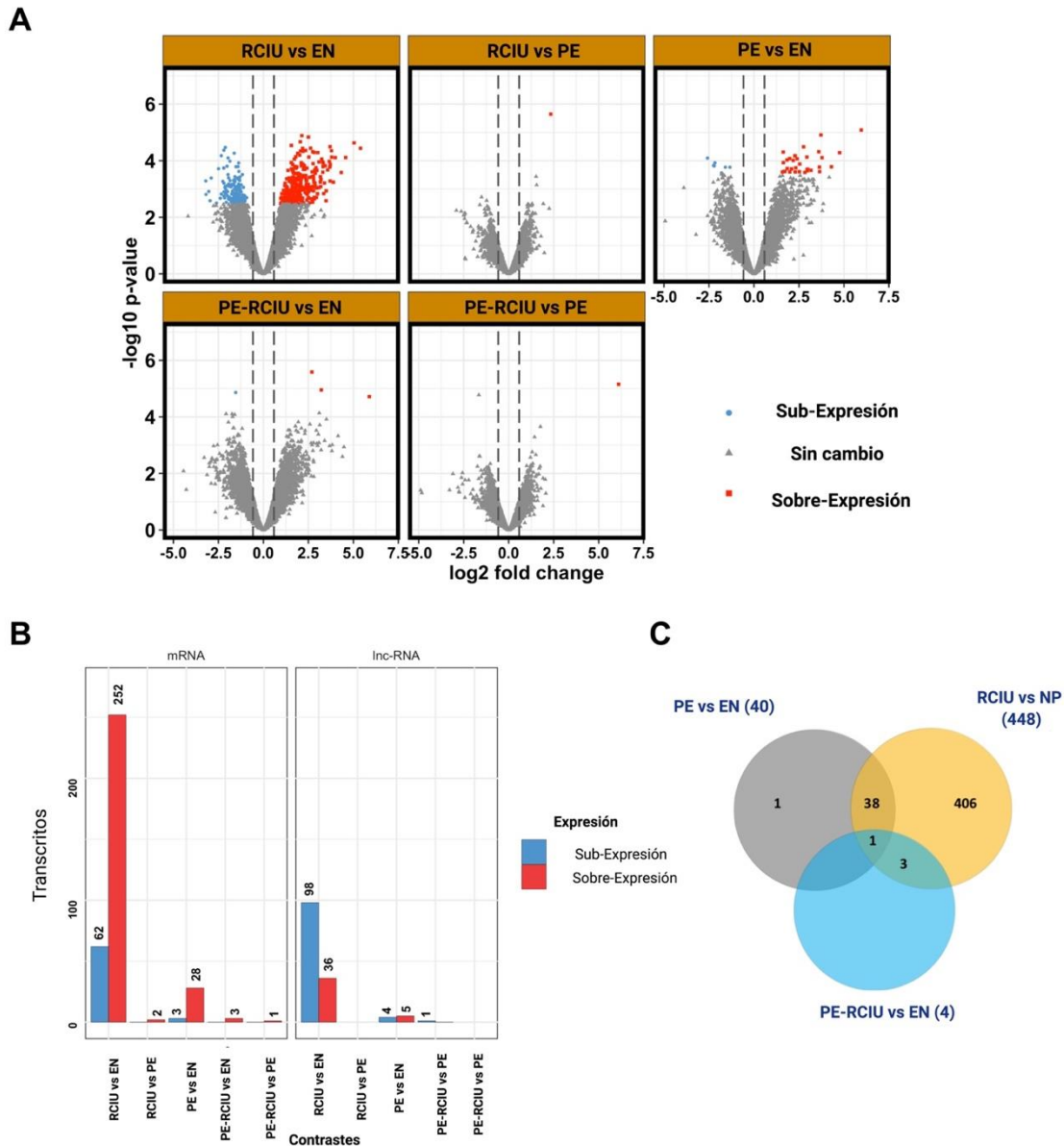
son mRNAs (252 sobre y 62 sub-expresados) y 133 son lncRNAs (36 sobre y 98 sub-expresados) (Fig. 5; Cuadro S1).

Además, cuando se comparó el perfil de expresión entre PE con EN, se identificaron un total de 40 transcritos diferencialmente expresados, de los cuales 31 son mRNAs (28 sobre- y 3 Sub-expresados) y 9 son lncRNAs (5 sobre- y 4 sub-expresados) (Fig. 5; Cuadro S1), y se detectaron 4 transcritos con expresión diferencial entre PE-RCIU y EN.

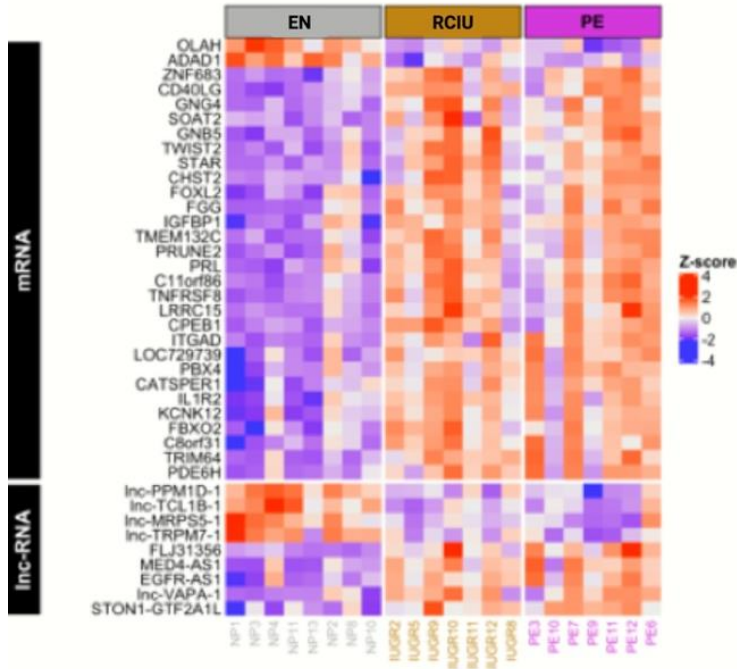
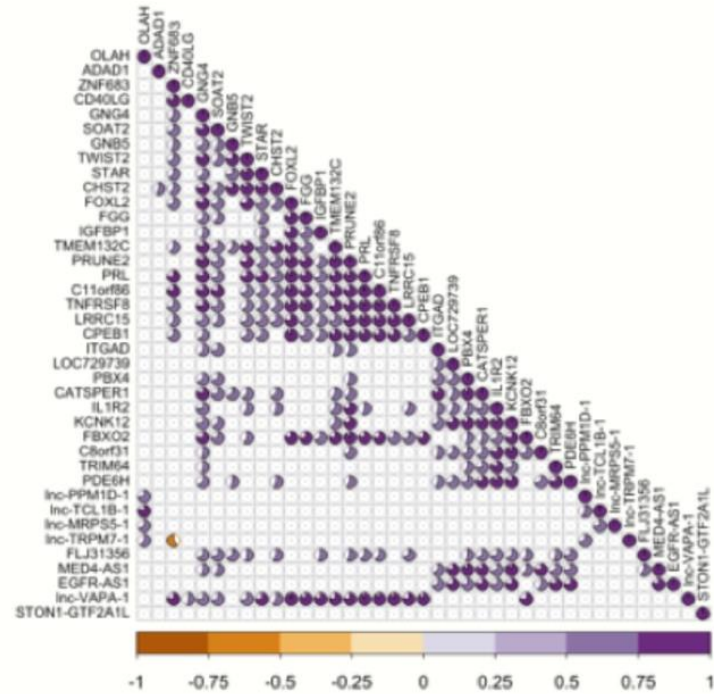
A continuación, se caracterizó con mayor precisión a aquellos genes que mostraron una expresión diferencial en dos o más comparaciones por pares, ya que estos transcritos podrían ser marcadores biológicos y representar una mayor utilidad para distinguir las enfermedades placentarias. De este análisis se identificaron 39 transcritos que mostraron cambios de expresión tanto en los grupos de RCIU como en PE en comparación con EN, los cuales constituyen el 97,5% de los 40 transcritos diferencialmente expresados entre PE y EN. Posteriormente, se analizaron los niveles de expresión de estos 39 transcritos en las muestras de RCIU, PE y EN y se evaluó su grado de correlación en las muestras de RCIU y PE. En concordancia con los resultados generales, la mayoría de dichos genes se encontraron sobre-expresados en ambas condiciones (Fig. 6A).

Al examinar el nivel de correlación por pares, se detectaron dos grupos de genes con correlación principalmente positiva ( $P < 0,05$ ) entre PE y RCIU. El primer grupo incluye los mRNAs *STAR*, *CHST2*, *FOXL2*, *FGG*, *IGFBP1*, *TMEM132*, *PRUNE2*, *TNFRSF1*, *CPEB1*, y los lnc-ARNs *MED4-AS1* y *EGFR-AS1*.





**Figura 5. Distribución de los genes diferencialmente expresados en las condiciones de estudio.** A) Volcano-plots. muestran los transcritos con expresión diferencial en cualquiera de las comparaciones realizadas entre diferentes grupos de estudio. El eje Y indica la significancia estadística expresada como en log10 de los valores p y el eje X muestra la tasa de cambio de expresión entre los grupos de estudio con base en log2 (log2 Fold change). Los puntos rojos indican genes significativamente sobre-expresados (con un cambio de expresión log2 > 1,5 y un valor p ajustado < 0,1) y los puntos azules indican genes significativamente sub-expresados (con un cambio de expresión log2 < -1,5 y un valor p ajustado < 0,1). (B) El número de genes sobre y sub-expresados, divididos por el tipo de transcrito se representa verticalmente en cada comparación (C) Diagrama de Venn que muestra el número de transcritos con una expresión diferencial significativa en las diferentes comparaciones entre grupos. PE, Preeclampsia; RCIU, Restricción del Crecimiento Intrauterino; PE-RCIU, Preeclampsia con Restricción del Crecimiento Intrauterino; EN, Embarazo Normal.

**A****B**

**Figura 6. Patrones de expresión génica compartidos en PE y RCIU.** (A) El mapa de calor muestra los niveles de expresión de 39 genes (filas), que se expresan de forma diferencial en PE y RCIU, a lo largo de las muestras (en columnas) agrupadas por condición clínica. Los niveles de expresión se presentan como valores de z-score con el fin de visualizar las diferencias de expresión entre las muestras. La paleta de colores indica los valores de expresión más altos en tonos rojos y los más bajos en tonos azules. B) Se calcularon correlaciones por pares basadas en valores de expresión para cada par de genes en la matriz que se muestra en A. Los coeficientes de Pearson calculados para cada par de genes se presentan en una matriz triangular, en la que los genes de las filas se proyectan en diagonal y son estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ). Los coeficientes de Pearson de las respectivas comparaciones con el resto de los genes se muestran en forma de gráfico circular, lo que equivale a la magnitud de la correlación de Pearson. Las correlaciones positivas se indican en tonos púrpuras y las negativas en tonos anaranjados.

Mientras que el segundo grupo está compuesto principalmente por los mRNAs *FBXO2*, *KCNK12*, *IL1R2*, y *CATSPER1* y el *Inc-VAPA-1* (Fig. 6B). Los patrones que surgieron de este análisis podrían ser indicativos de que estos genes están sometidos a un proceso de regulación común en ambas condiciones.

Además, para explorar la relevancia biológica y molecular de los genes diferencialmente expresados (GDE), primero se realizó un análisis de sobre-representación en el grupo de RCIU. El análisis demostró que el conjunto de genes con regulación a la baja se enriqueció en su mayor parte en la interacción neuroactiva ligando-receptor, la vía de señalización PI3K-Akt y la biosíntesis de ácidos grasos, biosíntesis de arginina, activación plaquetaria, vías de señalización de relaxina, estrés por desprendimiento de sustancias y aterosclerosis, vía de señalización de VEGF, entre otras ( $P < 0,05$ ) (Cuadro 8, Cuadro S1). Por otra parte, los genes regulados al alza en RCIU se enriquecieron principalmente en procesos inmunológicos, entre ellos la interacción de los receptores de citocina-citocina, vías de señalización de quimiocinas, vías involucradas en inmunodeficiencia primaria, vías de señalización de Th1 y Th2, rechazo al aloinjerto y enfermedad de injerto contra huésped, entre otros (Cuadro 9, Cuadro S1).

Posteriormente, el análisis se centró en la exploración de la clasificación funcional mediante las anotaciones de KEGG y ontología génica para procesos biológicos (GO\_Biological Process) y función molecular (GO\_Molecular Function), de los 39 mRNAs regulados de forma similar entre RCIU y PE. De este modo, se identificaron los procesos biológicos y moleculares relacionados a las patologías placentarias.

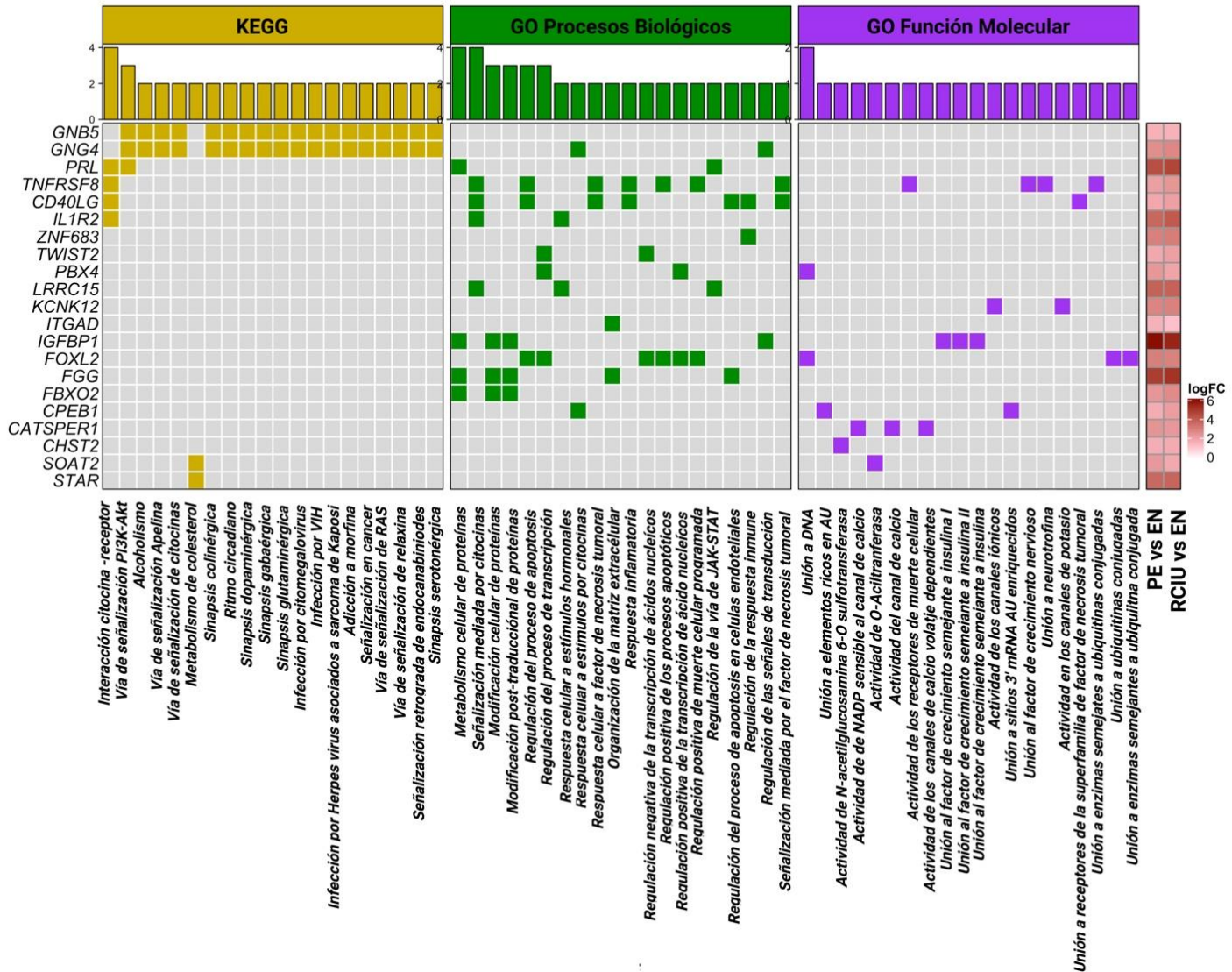
**Cuadro 8. Principales términos enriquecidos de los genes diferencialmente sub-expresados en RCIU**

| Genes sub-expresados |   |         |      |                                       |
|----------------------|---|---------|------|---------------------------------------|
|                      | Anotación funcional                                       | P       | OR   | Genes                                 |
| 1                    | Interacción neuroactiva ligando-receptor                  | 0.00743 | 4.1  | <i>KISS, UTS2R, P2RY6, CCK, RXFP3</i> |
| 2                    | Biosíntesis de ácidos grasos                              | 0.04582 | 21.3 | <i>OLAH</i>                           |
| 3                    | Biosíntesis de arginina                                   | 0.07297 | 13.2 | <i>NOS3</i>                           |
| 4                    | Activación plaquetaria                                    | 0.07363 | 4.4  | <i>NOS3, ITGB3</i>                    |
| 5                    | Vía de señalización de relaxina                           | 0.07986 | 4.2  | <i>NOS3, RXFP3</i>                    |
| 6                    | Estrés por desprendimiento de sustancias y aterosclerosis | 0.08952 | 4    | <i>NOS3, ITGB3</i>                    |
| 7                    | Vía de señalización de PI3K-Akt                           | 0.13524 | 2.3  | <i>NOS3, ITGB3, SGK2</i>              |
| 8                    | Metabolismo de lípidos                                    | 0.15608 | 5.9  | <i>GDPD1</i>                          |
| 9                    | Metabolismo de arginina y prolina                         | 0.16216 | 5.6  | <i>NOS3</i>                           |
| 10                   | Proteoglicanos en cáncer                                  | 0.16337 | 2.7  | <i>ITGB3, ANK3</i>                    |
| 11                   | Biosíntesis de N-Glycanos                                 | 0.16519 | 5.5  | <i>MAN1A2</i>                         |
| 12                   | Regulación de la actina del citoesqueleto                 | 0.18001 | 2.6  | <i>ITGB3, SPATA13</i>                 |
| 13                   | Vía de señalización de VEGF                               | 0.19192 | 4.7  | <i>NOS3</i>                           |

**Cuadro 9. Principales términos enriquecidos de los genes diferencialmente sobre-expresados en RCIU**

| Genes sobre-expresados |  |         |      |  |
|------------------------|--|---------|------|--|
|                        | Anotación funcional                              | P       | OR   | Genes  |
| 1                      | Interacción de los receptores Citocina-Citocina  | 0.00001 | 4.7  | <i>IL10, CCL23, IL15, IL1R2, CCL4L2, PRL, CXCL10, CXCL11, CD40LG, IL18RAP, IFNG, IL1B, CXCR3, IL2RB, TNFRSF8, CCL18, IL17D, CCR2</i> |
| 2                      | Vía de señalización de quimiocinas               | 0.00001 | 4.9  | <i>CXCL10, ITK, CXCL11, CCL23, SHC3, GNG4, CCL4L2, CXCR3, GNB5, ADCY1, CCL18, CCR2</i>   |
| 3                      | Inmunodeficiencia primaria                       | 0.00001 | 12.6 | <i>ZAP70, CD40LG, CD8B, LCK, TAP1, CD3D</i>  |
| 4                      | Citotoxicidad mediada por células Natural Killer | 0.00001 | 5.9  | <i>ZAP70, SHC3, IFNG, KIR2DS2, LCK, SH2D1B, GZMB, CD48, KLRC1, ITGAL</i>   |
| 5                      | Interacción neuroactiva ligando-receptor         | 0.00003 | 3.4  | <i>OXTR, GZMA, F2R, HTR2B, FPR3 PRL, RXFP1, C3, P2RY8, GAL, CNR1, SST, ADORA3, TAC3, VIP</i>   |
| 6                      | Línea celular hematopoyética                     | 0.00003 | 6.4  | <i>CD8B, CD5, IL1R2, IL1B, CD38, HLA-DQA2, CD3D, CD22</i>  |
| 7                      | Vía de señalización del receptor de células T    | 0.00005 | 6.1  | <i>IL10, ITK, ZAP70, CD40LG, CD8B, IFNG, LCK, CD3D</i>   |
| 8                      | Presentación y procesamiento de antígeno         | 0.00006 | 7.1  | <i>IFNG, CD8B, KIR2DS2, TAP1, KLRC1, B2M, HLA-DQA2</i>   |
| 9                      | Diferenciación de células Th17                   | 0.00007 | 5.8  | <i>ZAP70, IFNG, LCK, IL1B, IL2RB, IL17D, HLA-DQA2, CD3D</i>  |
| 10                     | Rechazo al aloinjerto                            | 0.00012 | 10.2 | <i>IL10, CD40LG, IFNG, GZMB, HLA-DQA2</i>  |
| 11                     | Enfermedad de injerto contra huésped             | 0.00017 | 9.53 | <i>IFNG, IL1B, GZMB, KLRC1, HLA-DQA2</i>   |
| 13                     | Diferenciación de células Th1 y Th2.             | 0.00018 | 5.94 | <i>ZAP70, IFNG, LCK, IL2RB, CD3D, RUNX3, HLA-DQA2</i>  |

Este análisis permitió obtener más información sobre los mecanismos moleculares implicados en ellas. Se observó una representación predominante de los siguientes procesos comprendidos entre las tres anotaciones en donde se observaron, vías de señalización de las citocinas, metabolismo y modificación de proteínas, metabolismo de colesterol, regulación de la cascada JAK-STAT, regulación de procesos apoptóticos, organización de la matriz extracelular y respuesta inflamatoria, entre otros (Fig. 7). Además se identificó de *GNB5*, *GNG4*, *PRL*, *TNFRSF8*, *CATSPER1*, *CD40LG*, *IL1R2*, *CHST2*, *CPEB1*, *FBXO2*, *FGG*, *FOXL2*, *IGFBP1*, *LRRC15*, *KCNK12*, *ITGAD*, *PBX4*, *SOAT2*, *STAR*, *TWIST2*, y *ZNF683* como los genes más prevalentes, entre los 20 términos más representados (Fig. 7). Es importante mencionar que una de las principales limitaciones de este estudio se relaciona con las diferencias observadas en la frecuencia de nuliparidad, edad gestacional al nacimiento y momento de inicio de la enfermedad en el grupo de PE-RCIU, es posible que estas características clínicas no permitieran caracterizar a profundidad el transcriptoma placentario en ese particular grupo de estudio; probablemente la edad gestacional al nacimiento sea responsable de diferencias transcripcionales que no son comparables con placentas afectadas por enfermedad de inicio tardío que tienen una resolución más cercana al término del embarazo, ni con embarazos normo-evolutivos a término. En referencia a esto, algunos autores han sugerido el uso de controles pretérmino comparar con los fenotipos de inicio temprano; sin embargo, utilizar muestras provenientes de estos embarazos implica que en estas pueden existir variaciones transcripcionales.



**Figura 7. Procesos sobre-representados en 39 genes con expresión diferencial en PE y RCIU.** En el panel central, la matriz muestra los genes que forman parte de la lista de términos sobre-representados de KEGG, procesos biológicos y función molecular. El gráfico de barras del panel superior muestra el número total de genes seleccionados para cada término biológico. A la derecha, la matriz muestra el nivel de cambio de expresión en base log2 para cada uno de los genes seleccionados expresados diferencialmente en los contrastes indicados.

Estas variaciones transcripcionales pueden estar ligadas a otras patologías obstétricas que se asocian parto pretérmino, tales como la ruptura prematura de membranas. Por lo anterior en este estudio solo se incluyeron embarazos normales a término cuya resolución se haya dado por cesárea iterativa o electiva, como parte del grupo control (Madeleneau y col., 2015).

Nuestro diseño de estudio permitió la caracterización del tejido placentario en los grupos de RCIU y PE severa y los resultados mostraron una gran variación transcripcional, particularmente en el grupo de RCIU y evidenciaron un grupo importante de transcritos diferencialmente expresados que se comparten en ambas condiciones al ser comparadas con el grupo de embarazo normo-evolutivo.

La restricción del crecimiento fetal se relaciona con complejos mecanismos genéticos y epigenéticos, así como con alteraciones relacionadas con los procesos tempranos de implantación y placentación, mismos que son críticos para mantener el suministro de nutrientes hacia el feto (Baschat y Hecher, 2004; Burton y Jauniaux, 2018; Robinson y col., 2019). Diversos estudios en modelos animales y en humanos han demostrado que la RCIU está relacionada con hipoxemia, alteraciones en los mecanismos de transporte placentario, vasculogénesis, angiogénesis, actividad de los factores de crecimiento similares a insulina (IGFs), incremento en los niveles de apoptosis, autofagia y niveles de glucocorticoides, así como un aumento en la respuesta inflamatoria y desbalance del sistema inmune (Sibley y col., 2005; Vasilis Sitrans y col., 2009; Desforges y Sibley, 2010; Zhang y col., 2015).

Los resultados de este estudio mostraron una disminución en la expresión de genes principalmente relacionados con vías de señalización asociadas a la actividad de



NOS3 (sintasa de óxido nítrico 3), dentro de las que se encuentran la biosíntesis y metabolismo de arginina, angiogénesis así como la vía de señalización de VEGF (Factor de Crecimiento Endotelial Vascular). NOS3 endotelial (eNOS3) participa durante la angiogénesis y vasculogénesis placentaria y se encuentra altamente expresada durante el desarrollo embrionario (Barut y col., 2010); una baja expresión de esta sintasa se encuentra directamente relacionada con una disminución en la biodisponibilidad de óxido nítrico y una invasión trofoblástica defectuosa, que como resultado generan una reducción en el flujo utero-placentario y baja disponibilidad de oxígeno, tal como se observa en los casos de RCIU (Schiessl y col., 2005). Además, existe evidencia que sugiere que la disfunción endotelial temprana en individuos con RCIU juega un papel importante en el subsecuente desarrollo de enfermedades hipertensivas, lo anterior podría estar relacionado con alteraciones en la actividad de eNOS y estrés oxidativo (Yzydorczyk y col., 2017).

Por el contrario, en este mismo grupo de estudio se observó un aumento en la expresión de mRNAs asociados con procesos inmunológicos tales como interacciones de receptores citocina-citocina, la vía de señalización del receptor de células T, así como genes relacionados con la enfermedad de injerto contra huésped. Dentro de los principales genes identificados en estas vías se encuentran, *ITK* (I112 inducible T cell kinase), *ZAP70* (Zeta-chain-associated protein kinase 70) y *LCK* (LCK Proto-Oncogene, Src Family Tyrosine Kinase). Tanto LCK como ZAP70 forman parte de las cascadas de señalización en los procesos de maduración y diferenciación de las células T (Matuszyk y Strzadała, 1997) y han sido previamente identificados en placentas restringidas como genes asociados a procesos

inflamatorios en esta patología (Majewska y col., 2019). Las cinasas de la familia Src tales como LCK participan en procesos que afectan la funcionalidad, invasión y diferenciación del trofoblasto (Daoud y col., 2006). Por lo tanto, la alteración en su expresión podría estar asociada con la inadecuada transformación de las arterias espirales que deriva en la isquemia placentaria.

Otros estudios llevados a cabo mediante análisis de expresión global de tejido placentario con microarreglos, han reportado también expresión diferencial en genes relacionados con procesos inflamatorios mediados por citocinas y quimiocinas (Vasilis Sitras y col., 2009). Recientemente, Wang y cols. publicaron hallazgos muy similares a los nuestros en un estudio realizado mediante NGS, en donde se reporta el transcriptoma de cordón umbilical proveniente de embarazos restringidos, identificando redes de regulación involucradas en respuesta inflamatoria, enfermedad de injerto contra huésped y rechazo a aloinjerto (Wang y col., 2020). Además de los reportes en donde destaca la desregulación de vías de señalización relacionadas con procesos inmunológicos, diferentes estudios han reportado desregulación de genes asociados con apoptosis, detoxificación, angiogénesis e hipoxia involucrada en placentas restringidas (Buffat y col., 2007; McCarthy y col., 2007; Struwe y col., 2010). En conjunto con nuestros resultados, estos hallazgos proporcionan una visión más profunda de las firmas moleculares relacionadas con la RCIU asociada a disfunción placentaria y enriquecen el conocimiento actual en relación con la teoría inmunológica que explica el origen de esta patología.

Por otro lado, la PE es la patología placentaria estudiada de manera mas extensa y para la cual aún existen diversas teorías sobre su origen, sin llegar a un consenso sobre su etiología (Benny y col., 2020). Sin embargo, es ampliamente aceptado que un proceso de placentación deficiente y la disfunción endotelial materna son las características mas distintivas de esta patología (Gilbert y col., 2008; Sosa y col., 2017). En este síndrome se puede presentar un espectro grande de fenotipos clínicos con diferentes grados de severidad, que a su vez se asocian con el momento de inicio de los síntomas y que pueden o no tener consecuencias en el desarrollo fetal. Por lo anterior, actualmente la clasificación clínica de la enfermedad se basa principalmente en el momento de inicio de los síntomas: PE de inicio temprano (< 34 SDG) o PE de inicio tardío ( $\geq 34$  SDG) (van Rijn y col., 2006; Veerbeek y col., 2015) y se diagnostica como PE con datos con severidad cuando se presentan datos asociados a insuficiencia renal, edema pulmonar, trombocitopenia, PA por encima de 110/160 mm Hg y/o alteraciones visuales y neurológicas ('ACOG Practice Bulletin No. 202: Gestational Hypertension y Preeclampsia', 2019).

La PE de inicio temprano está asociada con el espectro mas severo de la enfermedad y la presentación de RCIU. Esta asociación parece estar relacionada con una falla aún mas severa y extensa en el proceso de placentación durante las etapas mas tempranas de la gestación, lo que eventualmente lleva al desarrollo de niveles excesivamente elevados de estrés oxidativo, disfunción endotelial materna, hipoxia placentaria y RCIU (Burton y Jauniaux, 2004; Brosens y col., 2011; Roberts, 2014). Por otro lado, la PE sin presentación de RCIU es con mayor frecuencia

asociada a un inicio tardío de los síntomas y los efectos sistémicos parecen estar relacionados con factores maternos tales como obesidad, enfermedades metabólicas y predisposición genética para enfermedades cardiovasculares que pueden inducir disfunción endotelial en respuesta a factores liberados por la placenta (Chelbi y Vaiman, 2008; Dessì, Marincola y Fanos, 2015; Than y col., 2018). Sin embargo, no existe una explicación completa sobre porqué los efectos sistémicos de la disfunción placentaria solo se observan en PE o sobre cuáles son las diferentes vías que llevan a los distintos escenarios clínicos de esta patología. Este gran espectro de manifestaciones clínicas representa un gran reto en la búsqueda de las causas, diagnóstico temprano y prevención de la enfermedad (Sweeting, Park y Hyett, 2015). Además de esto, es importante resaltar que la PE es una enfermedad de la madre, el feto y la placenta y que las manifestaciones clínicas son un resultado de la interacción entre diversos factores de riesgo y vías de la enfermedad (Than y col., 2018; Rana y col., 2019).

El segundo hallazgo principal de este estudio resultó de la caracterización del transcriptoma placentario del grupo de PE con datos de severidad. Se identificaron 40 transcritos diferencialmente expresados al compararse con el grupo control, dentro de los que se incluyen 9 lncRNAs y se observó que casi la totalidad de estos transcritos también están presentes en el grupo de GDE en RCIU, con una regulación en la misma dirección y un alto grado de correlación para ambas condiciones. Estos transcritos están principalmente involucrados en vías moleculares asociadas a isquemia placentaria. Otros estudios también han identificado grupos de genes placentarios y firmas moleculares de disfunción

placentaria: Sober y cols., reportaron el análisis de expresión diferencial en placentas de PE de inicio tardío, diabetes gestacional, Fetus Pequeño para Edad Gestacional (PEG) y Grandes para Edad Gestacional (GEG) en donde se observó una expresión diferencial similar entre PEG, LGA y PE de inicio tardío, al ser comparadas con embarazo normal (Söber y col., 2015). Además, Gabor-Thán y cols., reportaron dos grandes grupos de genes placentarios, al analizar diferentes fenotipos clínicos de PE; el primer grupo se asoció a vías moleculares relacionadas con el síndrome materno, en donde factores como obesidad y predisposición genética generan cambios inflamatorios sistémicos durante el embarazo, que posteriormente dan lugar a alteraciones en la funcionalidad de las células trofoblásticas. Cabe resaltar que los genes correspondientes a este grupo no necesariamente afectan el crecimiento fetal mientras que en el segundo grupo se encuentran genes involucrados directamente en vías placentarias provenientes de una alteración en la diferenciación del trofoblasto, que finalmente genera una alteración en la expresión y funcionalidad placentaria. Este grupo de genes se encontró mayormente asociado con PE de inicio temprano, alteración del crecimiento y metabolismo fetal (Thán y col., 2018).

El análisis de enriquecimiento de vías de los GDE identificados en el presente estudio para los grupos de PE y RCIU, también permitió la identificación de genes involucrados en metabolismo fetal y placentario tales como *STAR* (Steroidogenic acute regulatory protein) y *SOAT2* (Sterol -Acyltransferase 2), dichos genes están implicados principalmente en la síntesis y metabolismo de colesterol. Además, se identificó un grupo de genes involucrados en el metabolismo de proteínas

incluyendo *IGFBP1* (Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 1), *FGG* (Fibrinogen Gamma Chain), *FBXO2* (F-Box Protein 2) y *PRL* (Prolactina).

La síntesis de hormonas esteroideas es vital para la regulación y mantenimiento del embarazo y se encuentra principalmente regulada por la placenta. La adaptación del sistema cardiovascular es en parte mediada por estrógenos sintetizados por la unidad útero-placentaria a partir de precursores esteroideos circulantes (Jobe, Tyler y Magness, 2013) y se ha demostrado que una alteración en la síntesis esteroidea placentaria se asocia con la severidad en la que se presentan los casos de PE (Hertig y Liere, 2010). Por otro lado, el crecimiento fetal también se ve afectado por cambios en la síntesis y metabolismo de nutrientes y hormonas placentarias (Fowden y Forhead, 2009; Newbern y Freemark, 2011; Sandovici y col., 2012; Zhang y col., 2015). *STAR* es un regulador temporal de la producción esteroidea y del tráfico intracelular de colesterol en tejidos esteroidogénicos. En modelos murinos se ha demostrado que este gen se encuentra altamente expresado en las células trofoblásticas gigantes durante un tiempo limitado en el segundo trimestre de la gestación (Manna, Dyson y Stocco, 2009; Yivgi-Ohana y col., 2009), mientras que *SOAT2* codifica para una acil-transferasa de colesterol, que es responsable de la síntesis de colesteril éster, mismos que constituyen la parte lipídica de los quilomicrones y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (Ahmed y col., 2019). Es importante destacar que *SOAT2* se ha reportado previamente en vías moleculares de regulación asociadas con PE (Benny y col., 2019). Por lo anterior, la alteración en la expresión de *SOAT2* y *STAR* refleja la importancia de las

alteraciones en la síntesis y metabolismo de colesterol durante el desarrollo de isquemia placentaria.

Por otra parte, la expresión diferencial de genes como *IGFBP1* y *PRL*, así como otros genes que también están involucrados en la vía de señalización de vía fosfatidilinositol 3 cinasa (PI3K/Akt) tales como *GNB5* y *GNG4*, resaltan la implicación de estas vías en la isquemia placentaria. Estos resultados concuerdan con los resultados de Rupasri y cols., quienes reportaron que la insuficiencia placentaria está asociada a alteraciones en la regulación de genes de la familia de *PRL* y una regulación a la baja de la vía IGF-II/Akt, lo cual finalmente lleva a un aumento en los niveles de apoptosis placentaria (Ain, Canham y Soares, 2005).

La expresión diferencial de *IGFBP1* se ha asociado con mayor frecuencia al desarrollo de RCIU, y en este estudio se encontró una sobre-expresión de este gen en ambas patologías. Este gen codifica para una proteína que durante la primera etapa de la gestación participa en los procesos de implantación e invasión trofoblástica y su sub-expresión durante el primer trimestre se ha asociado a fallas en la implantación, así como una placentación deficiente, lo que también contribuye en la presentación de insuficiencia placentaria. Además, hay pruebas sólidas que demuestran que esta proteína está altamente expresada en las placentas a término de embarazos complicados por PE o RCIU. Por lo anterior es que se han desarrollado líneas de investigación dirigidas a evaluar la concentración sérica de esta proteína durante etapas tempranas del embarazo como un potencial biomarcador predictivo para el desarrollo de RCIU. Sin embargo, los resultados son discrepantes entre los distintos estudios y algunos sugieren que la implementación

de modelos compuestos, en donde se determina la concentración de esta proteína en conjunto con métodos de ultrasonido, podría resultar efectivo en la predicción de esta patología en el primer trimestre de gestación (Fowler, Nicolaides y Miell, 2000; Bhatia y col., 2002; Struwe y col., 2010; Gaccioli y col., 2018; Kimyon Comert y col., 2019).

Por otra parte, en el presente estudio también se identificó una firma de lncRNAs compartida entre las patologías estudiadas. El conjunto de transcritos incluye *lnc-PPM1D-1*, *lnc-TCL1B-1*, *lnc-MRPS5-1*, *lnc-TRPM7-1*, *MED4-AS1*, *EGFR-AS1*, *FLJ31356*, *lnc-VAPA-1* y *STON1-GTF2A1L*. Los lncRNAs constituyen la mayoría del transcriptoma humano con funciones reguladoras fundamentales en muchos aspectos fisiológicos, incluyendo angiogénesis, apoptosis, proliferación celular y migración, así como inflamación y gametogénesis. Además, los lncRNAs regulan la expresión de los genes a nivel epigenético, transcripcional y postranscripcional y la alteración en la función de estos transcritos ha sido recientemente explorada tanto en PE como en RCIU. Existen estudios previos sobre la expresión diferencial de los lncRNAs de PE y RCIU comparados con embarazo normal (He y col., 2013; Zuckerwise y col., 2016; McAninch, Roberts y Bianco-Miotto, 2017; Song y col., 2017; Luo y Li, 2018; Azari y col., 2019). Sin embargo, de acuerdo con la literatura revisada, este es el primer trabajo que informa sobre un mismo conjunto de lncRNAs diferencialmente expresados en ambas complicaciones del embarazo; además, esto también refuerza la idea de que hay mecanismos epigenéticos subyacentes implicados en la isquemia placentaria que podrían ser en parte responsables de la



patología molecular y los cambios transcripcionales observados en estas condiciones.

Es importante señalar que *EGFR-AS1* ha sido previamente considerado un blanco de estudio importante en la fisiopatología de la PE (Basak y Ain, 2019). Un estudio *in vitro* demostró que el bloqueo en la transcripción de este lncRNA inhibe la proliferación celular y que su sobreexpresión muestra el resultado opuesto. El bloqueo del EGFR-AS1 también se asoció con la disminución de la expresión de p-JAK y p-STAT, por lo que parece que este lncRNA regula la vía de señalización de JAK-STAT (Zhao y Jiang, 2018). De forma interesante, nuestro análisis de ontología de genes también muestra que esta vía está sobre-regulada, no sólo para PE sino también para RCIU. Este es un ejemplo de los mecanismos en los que los lncRNAs están modulando importantes vías moleculares implicadas en la isquemia placentaria, por lo que las implicaciones de los lncRNAs reportados en este estudio merecen ser exploradas más a fondo.

En el presente estudio, los grupos de genes con expresión diferencial no son totalmente consistentes con los perfiles de expresión global reportados en la literatura actual por lo que es importante considerar que los enfoques ómicos aplicados a enfermedades complejas como PE y RCIU se enfrentan a muchos desafíos, en particular, cuando se utilizan muestras humanas. Entre estos desafíos se encuentran la heterogeneidad entre las distintas poblaciones, el tamaño de la muestra, las diferencias entre las técnicas, la diversidad de plataformas, las estrategias de muestreo, las definiciones clínicas y la complejidad de estos síndromes a nivel clínico y molecular. Lo anterior está estrechamente relacionado

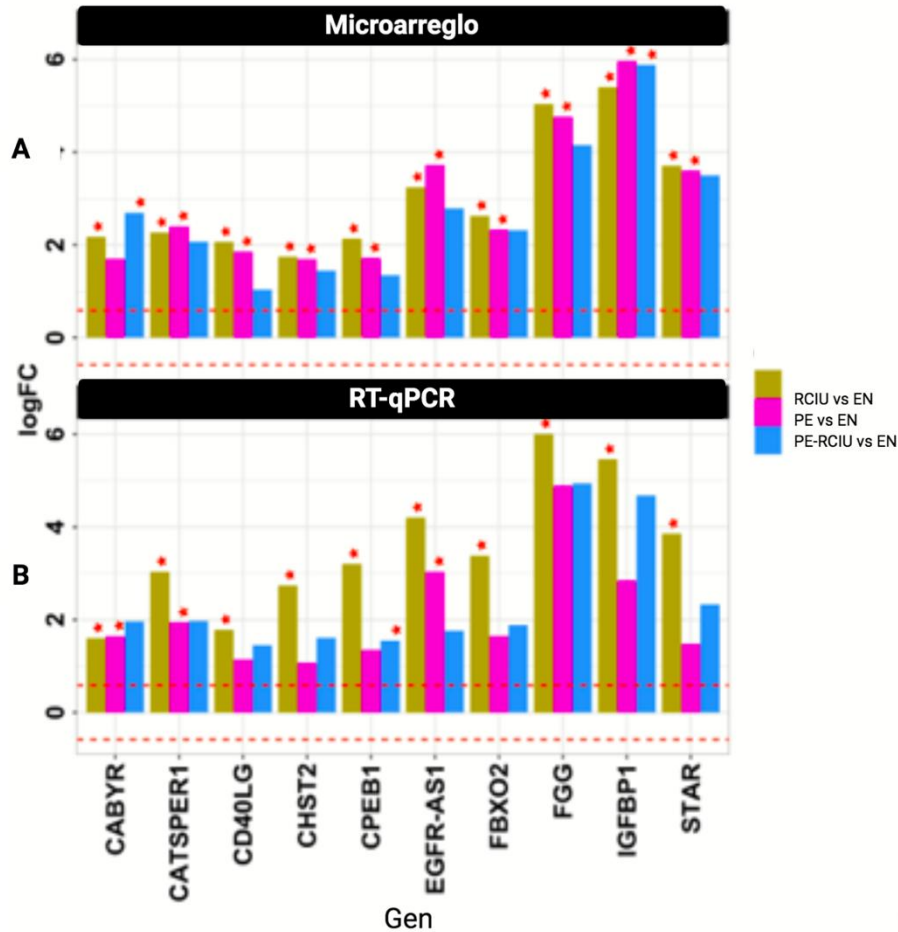
con las inconsistencias observadas en los resultados derivados de estudios ómicos (Cox y col., 2015; Benny y col., 2020). Por esta razón, los hallazgos aquí reportados requieren una interpretación cuidadosa y justifican una investigación más profunda para dilucidar la contribución exacta de los lncARN en la isquemia placentaria.

### **C VALIDACIÓN POR RT-qPCR DE GENES DIFERENCIALMENTE EXPRESADOS EN PREECLAMPSIA Y EN RESTRICCIÓN DEL CRECIMIENTO INTRAUTERINO**

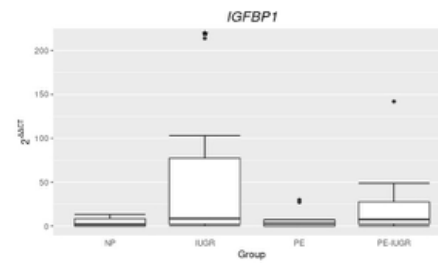
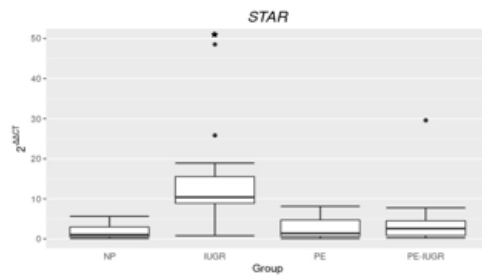
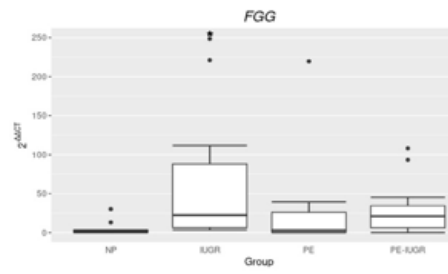
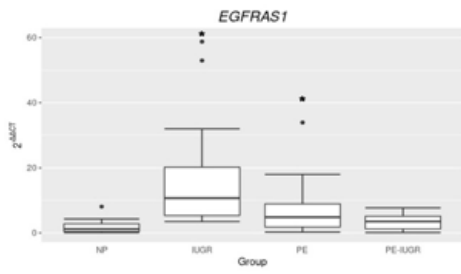
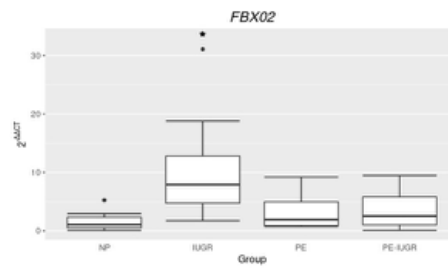
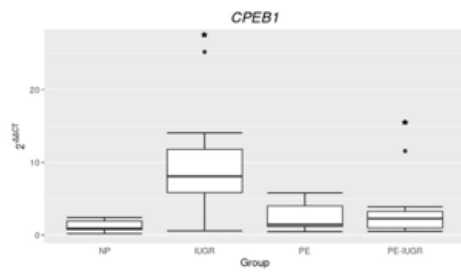
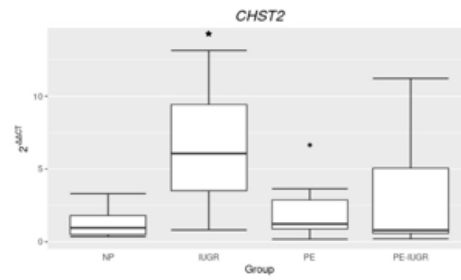
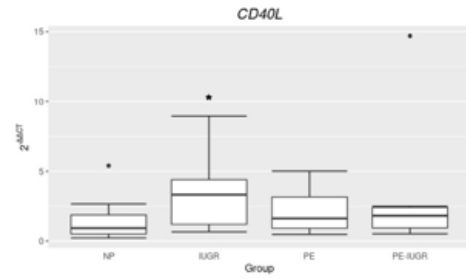
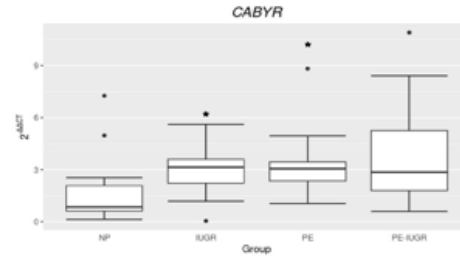
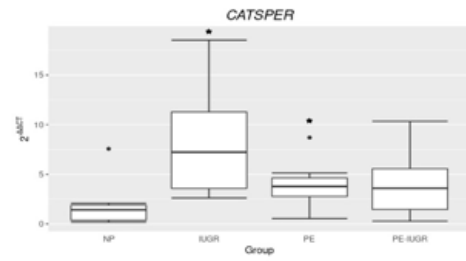
Con la finalidad de confirmar la fiabilidad de los perfiles de expresión obtenidos se seleccionaron 10 genes diferencialmente expresados. La validación incluyó 9 genes codificantes para proteínas; *IGFBP1*, *FGG*, *FBXO2*, *CPEB1*, *CHST2*, *CD40LG*, *CATSPER1*, *CABYR*, y *STAR* y el lncRNA *EGFR-AS1* (Fig. 8). El análisis de expresión génica se realizó en un set de muestras ampliado (12 RCIU, 11 PE, 11 PE-RCIU y 11 EN) (Cuadro 6). Los resultados mostraron un comportamiento similar en los valores de expresión mediante ambas técnicas. El análisis mediante RTq-PCR mostró una sobre-expresión significativa ( $P < 0,05$ ) de los genes codificantes de proteínas seleccionados y el lncRNA *EGFR-AS1* en el grupo de RCIU en comparación con el grupo de EN. Además, se observó un aumento en la expresión de *CABYR*, *CATSPER1* y *EGFR-AS1* en el grupo de PE. También se observó que *CPEB1* e *IGFBP1* están regulados al alza en el grupo PE-RCIU comparado con EN (Fig. 9).

Es importante señalar que los datos de este estudio fueron cuidadosamente analizados utilizando la corrección del valor  $P$  y un conjunto de muestras más grande para los ensayos de validación. Además, una de las fortalezas de nuestro

estudio se basa en los criterios de inclusión de los grupos analizados que evitaron la heterogeneidad clínica intragrupo, al incluir sólo PE con características severas y casos confirmados de RCIU con alteraciones hemodinámicas en la circulación feto-placentaria y con signos de insuficiencia placentaria. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, las características clínicas particulares del grupo de PE con RCIU limitaron de forma importante su análisis. Por esto último, se debe considerar aplicar otras estrategias de abordaje en el estudio de placentas afectadas con ambas patologías que permitan caracterizar aún más esta condición, ya que representa el espectro más grave de la enfermedad y parece tener una firma molecular distinta que no es comparable con placentas sanas a término.



**Figura 8. Validación por RT-qPCR de los genes con expresión diferencial seleccionados.** Se seleccionaron los genes con el mayor cambio de expresión y/o participación en los 20 principales procesos biológicos, moleculares o patológicos y su cambio de expresión se evaluó de forma independiente mediante RT- qPCR. (A) El diagrama de barras representa los resultados de los cambios de pliegues log<sub>2</sub> a partir de los datos de microarreglos, trazados en el eje y, para cada gen, aquí representados horizontalmente. Los asteriscos indican el lugar en que el cambio fue estadísticamente significativo (es decir, FDR < 0,1) y las líneas rojas discontinuas horizontales marcan el umbral de cambio de pliegues considerado significativo (-1,5 < cambio de pliegues > 1,5). (B) El diagrama de barras representa los resultados de 2-ΔCt de los datos de la RT-qPCR, trazados en el eje y para cada gen aquí representado horizontalmente. Los asteriscos indican el lugar en que el cambio fue estadísticamente significativo (es decir, el valor p < 0,05) y las líneas rojas discontinuas horizontales marcan el umbral de cambio de pliegado considerado como significativo.



**Figura 9. Valores de expresión de los genes seleccionados para validación por RTq-PCR.** Boxplots basados en en los valores de  $2\Delta\Delta - Ct$  en todos los grupos de estudio; Embarazos Normal (EN; n = 11), Restricción del Crecimiento Intrauterino (RCIU; n = 12), Preeclampsia (PE; n = 11) y Preeclampsia con Restricción del Crecimiento Intrauterino (PE . RCIU; n = 11). IGFBP1: Proteína 1 de unión al factor de crecimiento insulínico; FGG: Subunidad gamma de fibrinógeno; FBXO2: Proteína F-Box 2; EGFR-AS1: Long non-coding RNA-antisentido 1; CPEB1: Proteína 1 citoplasmática de unión a elementos poliadenilados; CHST2: Carbohidrato sulfotransferasa 2; CD40LG: CD40 Ligando; CATSPER1; Canal catiónico asociado a esperma 1; CABYR: Proteína de unión a calcio dependiente de fosforilación a tirosina; STAR: Proteína reguladora aguda esteroideogénica.

## VII CONCLUSIONES

1. Se identificó la expresión diferencial de 463 transcritos en tejido placentario de las patologías obstétricas estudiadas y embarazo normal.
2. El tejido placentario de embarazos complicados por RCIU mostró una mayor variación transcripcional al compararse con embarazo normal. Los genes diferencialmente expresados al alta están principalmente involucrados en procesos inflamatorios e inmunológicos, incluyendo activación de receptores de citocinas y vías asociadas con enfermedad de injerto contra huésped, mientras que el grupo de genes sub-expresados involucra vías de metabolismo arginina y óxido nítrico, así como la biosíntesis de ácidos grasos y proteínas.
3. Los transcritos diferencialmente expresados en PE al compararse con embarazo normal coinciden en su mayoría con los identificados en RCIU, lo cual indica que existe una alteración en común en los mecanismos moleculares principalmente asociados a vías de señalización de citocinas, metabolismo de colesterol, modificación de proteínas y señalización de JAK-STAT.
4. Se reportó por primera vez un conjunto de lncRNAs diferencialmente expresados tanto en RCIU como en PE, lo que indica que existen alteraciones en común a nivel epigenético entre ambas condiciones que podrían estar asociados al proceso de isquemia placentaria.

## VIII BIBLIOGRAFÍA

- ACOG Practice Bulletin No. 202: Gestational Hypertension and Preeclampsia. 2019. *Obstetrics and gynecology*. 133:E1-E25.
- Adams T, Yeh C, Bennett-Kunzier N y Kinzler WL. 2014. Long-term maternal morbidity and mortality associated with ischemic placental disease. *Seminars in Perinatology*. 38:146-150.
- Ahmed O, Pramfalk C, Pedrelli M, Olin M, Steffensen KR, Eriksson M y Parini P. 2019. Genetic depletion of Soat2 diminishes hepatic steatosis via genes regulating de novo lipogenesis and by GLUT2 protein in female mice. *Digestive and Liver Disease*. 51: 1016-1022.
- Ain R, Canham LN y Soares MJ. 2005. Dexamethasone-induced intrauterine growth restriction impacts the placental prolactin family, insulin-like growth factor-II and the Akt signaling pathway. *Journal of Endocrinology*.185.2: 253-263.
- American College of Obstetricians y Task Force on Hypertension in Pregnancy. 2013. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' *Task Force on Hypertension in Pregnancy*. *Obstetrics and gynecology*. 122.5:1122.
- Ananth CV 2014. Ischemic placental disease: A unifying concept for preeclampsia, intrauterine growth restriction, and placental abruption. *Seminars in Perinatology*. 38.3:131.
- Ananth CV y Vintzileos AM. 2011. Ischemic placental disease: Epidemiology and risk factors. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*.159.1: 77-82.
- Azari I, Ghafouri-Fard S, Omrani MD, Arsang-Jang S, Tamandani DMK, Rigi MS, Rafiee S, Pouresmaeili F y Taheri M. 2019. Expression of long non-coding RNAs in placentas of intrauterine growth restriction (IUGR) pregnancies. *Reports of Biochemistry and Molecular Biology*. 8.1:25
- Barton JR y Sibai BM. 2008. Prediction and prevention of recurrent preeclampsia.



*Obstetrics and Gynecology*. 112.2:359-372.

Barut F, Barut A, Gun BD, Kandemir NO, Harma MI, Harma M, Aktunc E y Ozdamar SO. 2010. Intrauterine growth restriction and placental angiogenesis. *Diagnostic Pathology*. 5.1:24.

Basak T y Ain R. 2019. Long non-coding RNAs in placental development and disease. *Non-coding RNA. Investigation*. 3:14.

Baschat AA y Hecher K. 2004. Fetal Growth Restriction due to Placental Disease. *Seminars in Perinatology*. 28.1:67-80.

Baschat AA y Weiner CP. 2000. Umbilical artery doppler screening for detection of the small fetus in need of antepartum surveillance. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 182.1:154-158.

Bell MJ. 2010. A historical overview of preeclampsia-eclampsia. *JOGNN - Journal of Obstetric, Gynecologic, and Neonatal Nursing*. 39.5: 510-518.

Bennasae M y Borobio V. 2016. Screening ecográfico fetal. *Hospital Universitario de Barcelona*.

Benny P, Yamasato K, Yunits B, Zhu X, Ching T, Garmire LX, Berry MJ y Towner D. 2019. Maternal cardiovascular-related single nucleotide polymorphisms, genes, and pathways associated with early-onset preeclampsia. *PLoS ONE*. 14.9: e0222672.

Benny PA, Alakwaa FM, Schlueter RJ, Lassiter CB y Garmire LX. 2020. A review of omics approaches to study preeclampsia. *Placenta*. 92: 7-27.

Betoni JS, Derr K, Pahl MC, Rogers L, Muller CL, Packard RE, Carey DJ, Kuivaniemi H y Tromp G. 2013. MicroRNA analysis in placentas from patients with preeclampsia: Comparison of new and published results. *Hypertension in Pregnancy*. 32.4:321-339.

Bhatia S, Faessen GH, Carland G, Balise RL, Gargosky SE, Druzin M, El-Sayed Y, Wilson DM y Giudice LC. 2002. A longitudinal analysis of maternal serum insulin-like growth factor I (IGF-I) and total and nonphosphorylated IGF-binding protein-1 in human pregnancies complicated by intrauterine growth restriction. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 87.4: 1864-1870.

- Brosens I, Pijnenborg R, Vercruyssen L y Romero R. 2011. The “great Obstetrical Syndromes” are associated with disorders of deep placentation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 204.3: 193-201.
- Broughton Pipkin F. 2001. Risk factors for preeclampsia: Editorial. *New England Journal of Medicine*. 344.12: 925.
- Buffat C, Mondon F, Rigourd V, Boubred F, Bessières B, Fayol L, Feuerstein JM, Gannerre M, Jammes H, Rebourcet R, Miralles F, Courbières B, Basire A, Dignat-Georges F, Carbonne B, Simeoni U y Vaiman D. 2007. A hierarchical analysis of transcriptome alterations in intrauterine growth restriction (IUGR) reveals common pathophysiological pathways in mammals. *Journal of Pathology*. 213.3: 337-346.
- Burton GJ y Jauniaux E. 2018. Pathophysiology of placental-derived fetal growth restriction. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 118.2: S745-S761.
- Burton GJ y Jauniaux E. 2004. Placental oxidative stress: From miscarriage to preeclampsia. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*. 11.6: 342-352.
- Calicchio R, Buffat C, Vaiman D y Miralles F. 2013. Endothelial dysfunction: Role in the maternal syndrome of preeclampsia and long-term consequences for the cardiovascular system. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*. 62.3: 215-220.
- Carlo Di Renzo G. 2009. The great obstetrical syndromes. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 633-635.
- Castellucci M, Kosanke G, Verdenelli F, Huppertz B y Kaufmann P. 2000. Villous sprouting: Fundamental mechanisms of human placental development. *Human Reproduction Update*. 6.5: 485-494.
- Chappell S y Morgan L. 2006. Searching for genetic clues to the causes of preeclampsia. *Clinical Science*. 110.4: 43-458.
- Chelbi ST y Vaiman D. 2008. Genetic and epigenetic factors contribute to the onset of preeclampsia. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 282.1-2: 120-129.
- Chu T, Bunce K, Shaw P, Shridhar V, Althouse A, Hubel C y Peters D. 2014. Comprehensive analysis of preeclampsia-associated DNA methylation in the

- placenta. *PLoS ONE*.9.9: e107318.
- Conde-Agudelo A, Villar J y Lindheimer M. 2008. Maternal infection and risk of preeclampsia: Systematic review and metaanalysis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*.198.1: 7-22.
- Contreras F, Martínez J, Fouilloux C, Betancourt M, Colmenares Y, Guevarra E, Torres D, Magaldi L, Jiménez S y Velasco M. 2002. Endotelio y trastornos hipertensivos en el embarazo. *Rev. Fac. Med. (Caracas)*.25.1: 121-129.
- Cox B, Leavey K, Nosi U, Wong F y Kingdom J. 2015. Placental transcriptome in development and pathology: Expression, function, and methods of analysis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*.213.4: S138-S151.
- Cross JC. 2003. The genetics of pre-eclampsia: A feto-placental or maternal problem? *Clinical Genetics*.64.2: 96-103.
- Cross JC. 2000. Genetic insights into trophoblast differentiation and placental morphogenesis. *Seminars in Cell and Developmental Biology*.11.2: 105-113.
- Daoud G, Rassart ÉÉ, Masse A y Lafond J. 2006. Src family kinases play multiple roles in differentiation of trophoblasts from human term placenta. *Journal of Physiology*.
- Desforges M y Sibley CP. 2010. Placental nutrient supply and fetal growth. *International Journal of Developmental Biology*.571.3: 537-553.
- Dessì A, Marincola FC y Fanos V. 2015. Metabolomics and the great obstetrical syndromes - GDM, PET, and IUGR. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*.29.2: 156-164.
- Deter RL, Cortisoz CM, Harrant RB, Hadlock FP y Batten GW. 1984. Longitudinal studies of fetal growth using volume parameters determined with ultrasound. *Journal of Clinical Ultrasound*.12.6: 313-324.
- Donoso Bernales B y Oyarzún Ebensperger E. 2012. Restricción del crecimiento intrauterino Intrauterine growth restriction. *Medwave*.12.06.
- Duckitt K y Harrington D. 2005. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: Systematic review of controlled studies. *British Medical Journal*. 330.749:565.
- Eduardo Sepúlveda S, Fátima Crispi B, Andrés Pons G y Eduard Gratacos S. 2014.

- Restricción de crecimiento intrauterino. *Revista Médica Clínica Las Condes*.
- Ego A, Subtil D, Grange G, Thiebaugeorges O, Senat MV, Vayssiere C y Zeitlin J. 2006. Customized versus population-based birth weight standards for identifying growth restricted infants: A French multicenter study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*.25.6: 958-963.
- Enquobahrie DA, Meller M, Rice K, Psaty BM, Siscovick DS y Williams MA. 2008. Differential placental gene expression in preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*.199.5: 566-e1.
- Figueras F y Gratacós E. 2014. Update on the diagnosis and classification of fetal growth restriction and proposal of a stage-based management protocol. *Fetal Diagnosis and Therapy*.36.2:86-98.
- Fisher SJ. 2004. The placental problem: Linking abnormal cytotrophoblast differentiation to the maternal symptoms of preeclampsia. *Reproductive Biology and Endocrinology*.2.1:53.
- Founds SA, Conley YP, Lyons-Weiler JF, Jeyabalan A, Allen Hogge W y Conrad KP. 2009. Altered Global Gene Expression in First Trimester Placentas of Women Destined to Develop Preeclampsia. *Placenta*.30.1:15-24.
- Fowden AL y Forhead AJ. 2009. Hormones as epigenetic signals in developmental programming. *Experimental Physiology*.94:607-625.
- Fowler DJ, Nicolaides KH y Miell JP. 2000. Insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1): A multifunctional role in the human female reproductive tract. *Human Reproduction Update*.6.5:495-504.
- Gaccioli F, Aye ILMH, Sovio U, Charnock-Jones DS y Smith GCS. 2018. Screening for fetal growth restriction using fetal biometry combined with maternal biomarkers. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*.218.2: S725-S737.
- Gibbs I, Leavey K, Benton SJ, Gynspan D, Bainbridge SA y Cox BJ. 2019. Placental transcriptional and histologic subtypes of normotensive fetal growth restriction are comparable to preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*.220.1: 110-e1.
- Gilbert JS, Ryan MJ, Lamarca BB, Sedeek M, Murphy SR y Granger JP. 2008.

- Pathophysiology of hypertension during preeclampsia: Linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*.294.2: H541-H550.
- Gregg AR. 2013. Preeclampsia. Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics.PP:397
- Grill S, Rusterholz C, Zanetti-Dällenbach R, Tercanli S, Holzgreve W, Hahn S y Lapaire O. 2009. Potential markers of preeclampsia - A review. *Reproductive Biology and Endocrinology*.7.1:1-14
- Hadlock FP, Harrist RB, Sharman RS, Deter RL y Park SK. 1985. Estimation of fetal weight with the use of head, body, and femur measurements-A prospective study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*.251.3: 333-337.
- He X, He Y, Xi B, Zheng J, Zeng X, Cai Q, OuYang Y, Wang C, Zhou X, Huang H, Deng W, Xin S, Huang Q y Liu H. 2013. LncRNAs expression in preeclampsia placenta reveals the potential role of LncRNAs contributing to preeclampsia pathogenesis. *PLoS ONE*.8.11: e81437.
- Hertig A y Liere P. 2010. New markers in preeclampsia. *Clinica Chimica Acta*. 411.21-22: 1591-1595.
- Hsieh TT, Hung TH, Lee CJ, Hsu JJ, Lo LM y Chin TH. 2000. Risk factors for preeclampsia in an Asian population. *International Journal of Gynecology y Obstetrics*.70: E31-E31.
- Huppertz B. 2008. Placental origins of preeclampsia: Challenging the current hypothesis. *Hypertension*. 51.4:970-975.
- Jobe SO, Tyler CT y Magness RR. 2013. Aberrant synthesis, metabolism, and plasma accumulation of circulating estrogens and estrogen metabolites in preeclampsia implications for vascular dysfunction. *Hypertension*. 61.2:480-487.
- Kady SM y Gardosi J. 2004. Perinatal mortality and fetal growth restriction. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*.
- Kimyon Comert G, Esin S, Caglar GS, Yirci B, Ozdemir S, Demirtas S y Kandemir O. 2019. The correlation between birth weight and insulin-like growth factor-

- binding protein-1 (IGFBP-1), kisspeptin-1 (KISS-1), and three-dimensional fetal volume. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 32.13: 2152-2158.
- Kleinrouweler CE, van Uiter M, Moerland PD, Ris-Stalpers C, van der Post JAM y Afink GB. 2013. Differentially Expressed Genes in the Pre-Eclamptic Placenta: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE*.8.7: e68991.
- Knöfler M, Haider S, Saleh L, Pollheimer J, Gamage TKJB y James J. 2019. Human placenta and trophoblast development: key molecular mechanisms and model systems. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 1-18.
- Leavey K, Bainbridge SA y Cox. 2015. Large scale aggregate microarray analysis reveals three distinct molecular subclasses of human preeclampsia. *PLoS ONE*.10.2: e0116508.
- Leavey K, Benton SJ, Gynspan D, Kingdom JC, Bainbridge SA y Cox BJ. 2016. Unsupervised Placental Gene Expression Profiling Identifies Clinically Relevant Subclasses of Human Preeclampsia. *Hypertension*.68.1: 137-147.
- Luo X y Li X. 2018. Long non-coding RNAs serve as diagnostic biomarkers of preeclampsia and modulate migration and invasiveness of trophoblast cells. *Medical Science Monitor*. 24:84.
- Madeleneau D, Buffat C, Mondon F, Grimault H, Rigourd V, Tsatsaris V, Letourneur F, Vaiman D, Barbaux S y Gascoin G. 2015. Transcriptomic analysis of human placenta in intrauterine growth restriction. *Pediatric Research*.76.7: 799-807.
- Majewska M, Lipka A, Pauksztó L, Jastrzebski JP, Szeszko K, Gowkielewicz M, Lepiarczyk E, Jozwik M y Majewski MK. 2019. Placenta transcriptome profiling in intrauterine growth restriction (IUGR). *International Journal of Molecular Sciences*. 20.6:1510.
- Manna PR, Dyson MT y Stocco DM. 2009. Regulation of the steroidogenic acute regulatory protein gene expression: Present and future perspectives. *Molecular Human Reproduction*. 15.6: 321-333.
- Maršál K. 2017. Preeclampsia and intrauterine growth restriction: Placental disorders still not fully understood. *Journal of Perinatal Medicine*. 45.7: 775-777.
- Matuszyk J y Strzadała L. 1997. [Signaling pathways and their role in maturation and

- function of T lymphocytes]. *Postepy higieny i medycyny doswiadczonej* 51: 351—365.51.4: 351-365.
- McAninch D, Roberts CT y Bianco-Miotto T. 2017. Mechanistic insight into long noncoding RNAs and the placenta. *International Journal of Molecular Sciences*. 18.7:1371.
- McCarthy C, Cotter FE, McElwaine S, Twomey A, Mooney EE, Ryan F y Vaughan J. 2007. Altered gene expression patterns in intrauterine growth restriction: Potential role of hypoxia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*.196.1: 70-e1.
- Meng T, Chen H, Sun M, Wang H, Zhao G y Wang X. 2012. Identification of differential gene expression profiles in placentas from preeclamptic pregnancies versus normal pregnancies by DNA microarrays. *OMICS A Journal of Integrative Biology*.16.6: 301-311.
- Mifsud W y Sebire NJ. 2014. Placental pathology in early-onset and late-onset fetal growth restriction. *Fetal Diagnosis and Therapy*. 36.2: 117-128.
- Moffett A, Loke C y McLaren A. 2006. Biology and Pathology of Trophoblast, Biology and Pathology of Trophoblast. pp-55-70.
- Mora J y Torres S. 2005. Guía para el diagnóstico y tratamiento de la Hipertensión en el embarazo. *Rev. Hosp. Matern. Infant. Ramon Sarda*. 24.2:64-70.
- Morgan-Ortiz F, Calderón-Lara SA, Martínez-Félix JI, González-Beltrán A y Quevedo-Castro E. 2010. Factores de riesgo asociados con preeclampsia: Estudio de casos y controles. *Ginecología y Obstetricia de Mexico*.78.03: 153-159.
- Nafee TM, Farrell WE, Carroll WD, Fryer AA y Ismail KMK. 2008. Epigenetic control of fetal gene expression. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*.115.2: 158-168..
- Nelissen ECM, van Montfoort APA, Dumoulin JCM y Evers JLH. 2011. Epigenetics and the placenta. *Human Reproduction Update*. 17.3: 397-417.
- Newbern D y Freemark M. 2011. Placental hormones and the control of maternal metabolism and fetal growth. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and*

*Obesity*. 18.6: 409-416.

- Nishizawa H, Ota S, Suzuki M, Kato T, Sekiya T, Kurahashi H y Udagawa Y. 2011. Comparative gene expression profiling of placentas from patients with severe pre-eclampsia and unexplained fetal growth restriction. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 9.1:107.
- Nishizawa H, Pryor-Koishi K, Kato T, Kowa H, Kurahashi H y Udagawa Y. 2007. Microarray Analysis of Differentially Expressed Fetal Genes in Placental Tissue Derived from Early and Late Onset Severe Pre-eclampsia. *Placenta*. 28.5-6:487-497.
- Parker SE y Werler MM. 2014. Epidemiology of ischemic placental disease: A focus on preterm gestations. *Seminars in Perinatology*. 38.3: 133-138.
- Pattinson RC, Norman K y Odendaal HJ. 1994. The role of Doppler velocimetry in the management of high risk pregnancies. *BJOG: An International Journal of Obstetrics y Gynaecology*. 1012:114-120.
- Peralta-Pedrero ML, Guzmán-Ibarra MDLÁ, Cruz-Avelar A, Basavilvazo-Rodríguez MA, Sánchez-Ambríz S y Martínez-García MDC. 2004. Usefulness of establishing diagnosis and severity of the most frequent signs and symptoms in preeclamptic patients. *Gaceta Medica de Mexico*. 40.5:513-517.
- Perni U, Sison C, Sharma V, Helseth G, Hawfield A, Suthanthiran M y August P. 2012. Angiogenic factors in superimposed preeclampsia: A longitudinal study of women with chronic hypertension during pregnancy. *Hypertension*. 59.3:740-746.
- Rana S, Lemoine E, Granger J y Karumanchi SA. 2019. Preeclampsia: Pathophysiology, Challenges, and Perspectives. *Circulation Research*. 124.7:1094-1112.
- Rath W y Fischer T. 2009. The Diagnosis and Treatment of Hypertensive Disorders of Pregnancy. *Deutsches Ärzteblatt International*. 106.45:733.
- Redman CW y Sargent IL. 2005. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*. 308.5728:1592-1594.
- Redman CWG y Staff AC. 2015. Preeclampsia, biomarkers, syncytiotrophoblast



- stress, and placental capacity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 308.5728: 1592-1594.
- Regnault TRH, Galan HL, Parker TA y Anthony R V. 2002. Placental development in normal and compromised pregnancies - A review. *Placenta*. 23:S119-S129.
- Roberts JM. 2014. Pathophysiology of ischemic placental disease. *Seminars in Perinatology*. 38.3: 139-145.
- Roberts JM y Escudero C. 2012. The placenta in preeclampsia. *Pregnancy Hypertension*. 2.2:72-83.
- Robinson WP, Peñaherrera MS, Konwar C, Yuan V y Wilson SL. 2019. Epigenetic Modifications in the Human Placenta, en: *Human Reproductive and Prenatal Genetics*. pp 293-311.
- Sammour MB, El-Kabarity H, Fawzy MM y Schindler AE. 2011. WHO Recommendations for prevention and treatment of pre-eclampsia and eclampsia, WHO Recommendations for Prevention and Treatment of Pre-Eclampsia and Eclampsia.
- Sandovici I, Hoelle K, Angiolini E y Constância M. 2012. Placental adaptations to the maternal-fetal environment: Implications for fetal growth and developmental programming, en: *Reproductive BioMedicine Online*. 25.1:68-89.
- Schiessl B, Mylonas I, Hantschmann P, Kuhn C, Schulze S, Kunze S, Friese K y Jeschke U. 2005. Expression of endothelial NO synthase, inducible NO synthase, and estrogen receptors alpha and beta in placental tissue of normal, preeclamptic, and intrauterine growth-restricted pregnancies. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 53.12:1441-1449.
- Scifres CM y Nelson DM. 2009. Intrauterine growth restriction, human placental development and trophoblast cell death, en: *Journal of Physiology*. 587.14:3453-3458.
- Sibley CP, Turner MA, Cetin I, Ayuk P, Boyd CAR, D'Souza SW, Glazier JD, Greenwood SL, Jansson T y Powell T. 2005. Placental phenotypes of intrauterine growth. *Pediatric Research*. 587.14: 3453-3458.
- Sitras Vasilis, Paulssen R, Leirvik J, Vårtun Å y Acharya G. 2009. Placental gene

- expression profile in intrauterine growth restriction due to placental insufficiency. *Reproductive Sciences*. 16.7: 701-711.
- Sitras V., Paulssen RH, Grønaas H, Leirvik J, Hanssen TA, Vårtun Å y Acharya G. 2009. Differential Placental Gene Expression in Severe Preeclampsia. *Placenta*. 30.5:424-433.
- Skjærven R, Wilcox AJ y Lie RT. 2002. The interval between pregnancies and the risk of preeclampsia. *New England Journal of Medicine*. 346.1:33-38.
- Soares MJ, Chapman BM, Rasmussen CA, Dai G, Kamei T y Orwig KE. 1996. Differentiation of trophoblast endocrine cells. *Placenta*. 17.5-6:277-289.
- Soares MJ, Iqbal K y Kozai K. 2017. Hypoxia and Placental Development. *Birth Defects Research*. 109.17:1309-1329.
- Sõber S, Reiman M, Kikas T, Rull K, Inno R, Vaas P, Teesalu P, Marti JML, Mattila P y Laan M. 2015. Extensive shift in placental transcriptome profile in preeclampsia and placental origin of adverse pregnancy outcomes. *Scientific Reports*. 5:13336.
- Song X, Luo X, Gao Quansheng, Wang Y, Gao Qing y Long W. 2017. Dysregulation of LncRNAs in Placenta and Pathogenesis of Preeclampsia. *Current Drug Targets*. 18.10:1165-1170.
- Sørensen S, Hoegh AM, Borup R, Nielsen FC y Hviid TVF. 2010. Gene expression profiling of placentas affected by pre-eclampsia. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2010.
- Sosa SEY, Flores-Pliego A, Espejel-Nuñez A, Medina-Bastidas D, Vadillo-Ortega F, Zaga-Clavellina V y Estrada-Gutierrez G. 2017. New insights into the role of matrix metalloproteinases in preeclampsia. *International Journal of Molecular Sciences*. 18.7:1448.
- Staff AC, Benton SJ, Von Dadelszen P, Roberts JM, Taylor RN, Powers RW, Charnock-Jones DS y Redman CWG. 2013. Redefining preeclampsia using placenta-derived biomarkers. *Hypertension*. 61.5:932-942.
- Struwe E, Berzl G, Schild R, Blessing H, Drexel L, Hauck B, Tzschoppe A, Weidinger M, Sachs M, Scheler C, Schleussner E y Dötsch J. 2010. Microarray analysis

- of placental tissue in intrauterine growth restriction. *Clinical Endocrinology*. 72.2: 241-247.
- Sweeting A, Park F y Hyett J. 2015. The first trimester: Prediction and prevention of the great obstetrical syndromes. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 29.2:183-193.
- Tay J, Foo L, Masini G, Bennett PR, McEniery CM, Wilkinson IB y Lees CC. 2018. Early and late preeclampsia are characterized by high cardiac output, but in the presence of fetal growth restriction, cardiac output is low: insights from a prospective study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 21.5:517-e1
- Than NG, Romero R, Tarca AL, Kekesi KA, Xu Y, Xu Z, Juhasz K, Bhatti G, Leavitt RJ, Gelencser Z, Palhalmi J, Chung TH, Gyorffy BA, Orosz L, Demeter A, Szecsi A, Hunyadi-Gulyas E, Darula Z, Simor A, Eder K, Szabo S, Topping V, El-Azzamy H, LaJeunesse C, Balogh A, Szalai G, Land S, Torok O, Dong Z, Kovalszky I, Falus A, Meiri H, Draghici S, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Krispin M, Knöfler M, Erez O, Burton GJ, Kim CJ, Juhasz G y Papp Z. 2018. Integrated systems biology approach identifies novel maternal and placental pathways of preeclampsia. *Frontiers in Immunology*.9:1661.
- Toft JH, Lian IA, Tarca AL, Erez O, Espinoza J, Eide IP, Bjørge L, Draghici S, Romero R y Austgulen R. 2008. Whole-genome microarray and targeted analysis of angiogenesis-regulating gene expression (ENG, FLT1, VEGF, PIGF) in placentas from pre-eclamptic and small-for-gestational-age pregnancies. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 21.4:267-273.
- Triche EW, Uzun A, Dewan AT, Kurihara I, Liu J, Occhiogrosso R, Shen B, Parker J y Padbury JF. 2014. Bioinformatic approach to the genetics of preeclampsia. *Obstetrics and Gynecology*. 123.6:1155.
- Turco MY y Moffett A. 2019. Development of the human placenta. *Development (Cambridge)*. 146.22
- Vaiman D, Calicchio R y Miralles F. 2013. Landscape of Transcriptional Deregulations in the Preeclamptic Placenta. *PLoS ONE*. 8.6:e65498.

- Valencia JA. 2014. Early placental development: pathophysiological aspects. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*. 60.2:131-140.
- Van Rijn BB, Hoeks LB, Bots ML, Franx A y Bruinse HW. 2006. Outcomes of subsequent pregnancy after first pregnancy with early-onset preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 195.3:723-728.
- Várkonyi T, Nagy B, Füle T, Tarca AL, Karászi K, Schönleber J, Hupuczi P, Mihalik N, Kovalszky I, Rigó J, Meiri H, Papp Z, Romero R y Than NG. 2011. Microarray profiling reveals that placental transcriptomes of early-onset HELLP syndrome and preeclampsia are similar. *Placenta*. 32:S21-S29.
- Vásárhelyi B, Cseh Á, Kocsis I, Treszl A, Györffy B y Rigó J. 2006. Three mechanisms in the pathogenesis of pre-eclampsia suggested by over-represented transcription factor-binding sites detected with comparative promoter analysis. *Molecular Human Reproduction*.
- Veerbeek JHW, Hermes W, Breimer AY, Van Rijn BB, Koenen S V., Mol BW, Franx A, De Groot CJM y Koster MPH. 2015. Cardiovascular disease risk factors after early-onset preeclampsia, late-onset preeclampsia, and pregnancy-induced hypertension. *Hypertension*. , 65.3:600-606.
- Wang G, Yu J, Yang Y, Liu X, Zhao X, Guo X, Duan T, Lu C y Kang J. 2020. Whole-transcriptome sequencing uncovers core regulatory modules and gene signatures of human fetal growth restriction. *Clinical and Translational Medicine*. 9.1:9.
- Yivgi-Ohana N, Sher N, Melamed-Book N, Eimerl S, Koler M, Manna PR, Stocco DM y Orly J. 2009. Transcription of steroidogenic acute regulatory protein in the rodent ovary and placenta: Alternative modes of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate dependent and independent regulation. *Endocrinology*. 150.2:977-989.
- Yzydorczyk C, Armengaud JB, Peyter AC, Chehade H, Cachat F, Juvet C, Siddeek B, Simoncini S, Sabatier F, Dignat-George F, Mitanchez D y Simeoni U. 2017. Endothelial dysfunction in individuals born after fetal growth restriction: Cardiovascular and renal consequences and preventive approaches. *Journal of*

*Developmental Origins of Health and Disease.* 1:25-80

Zamorski MA y Green LA. 2001. NHBPEP report on high blood pressure in pregnancy: A summary for family physicians. *American Family Physician.* 64:2:263.

Zhang S, Regnault TRH, Barker PL, Botting KJ, McMillen IC, McMillan CM, Roberts CT y Morrison JL. 2015. Placental adaptations in growth restriction. *Nutrients.* 7.1:360-389.

Zhao ZM y Jiang J. 2018. Lowly expressed EGFR-AS1 promotes the progression of preeclampsia by inhibiting the EGFR-JAK/STAT signaling pathway. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 22.19:6190-6197.

Zhou R, Zhu Q, Wang Y, Ren Y, Zhang L y Zhou Y. 2006. Genomewide oligonucleotide microarray analysis on placentae of pre-eclamptic pregnancies. *Gynecologic and Obstetric Investigation.* 62.2:108-114.

Zuckerwise L, Li J, Lu L, Men Y, Geng T, Buhimschi CS, Buhimschi IA, Bukowski R, Guller S, Paidas M y Huang Y. 2016. H19 long noncoding RNA alters trophoblast cell migration and invasion by regulating T $\beta$ R3 in placentae with fetal growth restriction. *Oncotarget.* 7:2538398.

## IX SIGLAS Y ABREVIACIONES

|         |   |
|---------|---|
| PE      | Preeclampsia  |
| RCIU    | Restricción del Crecimiento Intrauterino                  |
| PE-RCIU | Preeclampsia con Restricción del Crecimiento Intrauterino |
| EN      | Embarazo Normal   |
| IMCp    | Índice de Masa Corporal pregestacional                    |
| EG      | Edad Gestacional  |
| GP      | Ganancia de Peso en el Embarazo                           |
| PEG     | Pequeño para Edad Gestacional                             |
| GEG     | Grande para Edad Gestacional                              |
| miRNA   | Micro RNA   |

RNA      Ácido Ribonucleico  
 IncRNA   RNA largo de cadena no codificante

## X      ANEXOS

### A.    CUADRO S1

**Cuadro suplementario S1. Genes diferencialmente expresados entre los grupos de estudio**

| Gen      | logFC | P        | P ajustada | Contrastes | Tipo de transcrito |
|----------|-------|----------|------------|------------|--------------------|
| IGFBP1   | 6.0   | 8.25E-06 | 0.08       | PE-EN      | mRNA               |
| EGFR-AS1 | 3.7   | 1.23E-05 | 0.08       | PE-EN      | Inc-RNA            |
| C11orf86 | 2.8   | 3.24E-05 | 0.09       | PE-EN      | mRNA               |
| STAR     | 3.6   | 4.82E-05 | 0.09       | PE-EN      | mRNA               |
| ITGAD    | 1.6   | 4.94E-05 | 0.09       | PE-EN      | mRNA               |
| FGG      | 4.8   | 5.21E-05 | 0.09       | PE-EN      | mRNA               |
| PBX4     | 2.3   | 6.71E-05 | 0.09       | PE-EN      | mRNA               |
| SOAT2    | 2.3   | 6.74E-05 | 0.09       | PE-EN      | mRNA               |

|                   |      |                 |      |       |         |
|-------------------|------|-----------------|------|-------|---------|
| ZNF683            | 2.9  | 7.43E-05        | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| LRRRC15           | 3.8  | 7.81E-05        | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| OLAH              | -2.6 | 8.07E-05        | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| CATSPER<br>1      | 2.4  | 8.56E-05        | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| TWIST2            | 1.8  | 9.38E-05        | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| TMEM132<br>C      | 2.2  | 9.76E-05        | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| FLJ31356          | 2.0  | 8.39E-05        | 0.09 | PE-EN | lnc-RNA |
| lnc-<br>TCL1B-1   | -2.2 | 0.0001482<br>22 | 0.09 | PE-EN | lnc-RNA |
| lnc-<br>MRPE5-1   | -2.2 | 0.0001535       | 0.09 | PE-EN | lnc-RNA |
| GNB5              | 1.6  | 0.0001169<br>19 | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| GNGT1             | -2.2 | 0.000119        | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| GNG4              | 2.5  | 0.0001313<br>96 | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| lnc-<br>PPM1D-1   | -1.6 | 0.0001703<br>53 | 0.09 | PE-EN | lnc-RNA |
| PRL               | 4.3  | 0.0001641<br>44 | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| TRIM64            | 3.6  | 0.0001690<br>78 | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| ADAD1             | -1.3 | 0.0001705<br>75 | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| FBXO2             | 2.3  | 0.0001792<br>33 | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| CD40LG            | 1.9  | 0.0001886<br>32 | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| TNFRSF8           | 2.1  | 0.0001946<br>35 | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| LOC7297<br>39     | 3.0  | 0.0001982<br>75 | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| FOXL2             | 3.0  | 0.0002080<br>32 | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| STON1-<br>GTF2A1L | 2.0  | 0.0002509<br>19 | 0.09 | PE-EN | lnc-RNA |
| PDE6H             | 3.0  | 0.0002266<br>65 | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| CHST2             | 1.7  | 0.0002405<br>1  | 0.09 | PE-EN | mRNA    |
| CPEB1             | 1.7  | 0.0002407<br>82 | 0.09 | PE-EN | mRNA    |

|                  |      |                 |      |                |         |
|------------------|------|-----------------|------|----------------|---------|
| IL1R2            | 3.6  | 0.0002434<br>15 | 0.09 | PE-EN          | mRNA    |
| MED4-<br>AS1     | 2.5  | 0.0002453<br>93 | 0.09 | PE-EN          | lnc-RNA |
| PRUNE2           | 2.3  | 0.0002506<br>15 | 0.09 | PE-EN          | mRNA    |
| lnc-VAPA-<br>1   | 3.2  | 0.0002191<br>49 | 0.09 | PE-EN          | lnc-RNA |
| C8orf31          | 1.6  | 0.0002514<br>9  | 0.09 | PE-EN          | mRNA    |
| KCNK12           | 2.8  | 0.0002602<br>78 | 0.09 | PE-EN          | mRNA    |
| lnc-<br>TRPM7-1  | -1.8 | 0.0002709<br>96 | 0.09 | PE-EN          | lnc-RNA |
| CABYR            | 2.7  | 2.60E-06        | 0.04 | PE-RCIU-<br>EN | mRNA    |
| MCEMP1           | 3.2  | 1.12E-05        | 0.06 | PE-RCIU-<br>EN | mRNA    |
| LOC3387<br>97    | -1.5 | 1.37E-05        | 0.06 | PE-RCIU-<br>EN | lnc-RNA |
| IGFBP1           | 5.9  | 1.93E-05        | 0.07 | PE-RCIU-<br>EN | mRNA    |
| CPEB1            | 2.1  | 1.30E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| TMEM132<br>C     | 2.5  | 1.46E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| TWIST2           | 2.1  | 2.15E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| FGG              | 5.0  | 2.35E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| CYP2A7           | 1.6  | 2.89E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| STAR             | 3.7  | 3.21E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| LOC1019<br>29019 | -2.1 | 3.39E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | lnc-RNA |
| FBXO2            | 2.6  | 3.60E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| IGFBP1           | 5.4  | 3.63E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| CABYR            | 2.2  | 3.66E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| MS4A12           | -2.2 | 4.26E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| TNFRSF8          | 2.3  | 4.34E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| PDZK1IP1         | 3.8  | 4.44E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| CD40LG           | 2.1  | 4.55E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| F2R              | 2.2  | 4.66E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| GNG4             | 2.7  | 4.83E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| RFPL4B           | 2.8  | 5.12E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |
| ZNF683           | 3.0  | 5.16E-05        | 0.04 | RCIU-EN        | mRNA    |



|               |      |             |      |         |         |
|---------------|------|-------------|------|---------|---------|
| lnc-TRMT61B-2 | -1.6 | 5.43E-05    | 0.04 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| RUNX3         | 1.9  | 5.48E-05    | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| SAMD3         | 2.0  | 6.32E-05    | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-F8A2-1    | -2.3 | 6.65E-05    | 0.04 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| CYP3A7        | 1.8  | 7.24E-05    | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| PRUNE2        | 2.5  | 7.43E-05    | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| LRRC15        | 3.8  | 7.48E-05    | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| PRL           | 4.6  | 7.72E-05    | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| IL1R2         | 4.0  | 7.76E-05    | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| PCDH11X       | -2.0 | 7.98E-05    | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| EGFR-AS1      | 3.2  | 8.75E-05    | 0.04 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| C8orf31       | 1.7  | 8.81E-05    | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-SPATA9-1  | -1.9 | 0.000103978 | 0.04 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| TAC3          | 3.7  | 0.000105524 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| DAW1          | 3.3  | 0.000110116 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| IGSF10        | 3.1  | 0.000110719 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| TM4SF19       | 1.6  | 0.000116817 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| RNASE4        | 2.1  | 0.000118813 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| ADAD1         | -1.4 | 0.000119749 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-VAPA-1    | 3.3  | 0.000121603 | 0.04 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| HTR2B         | 2.8  | 0.000126938 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| ANKRD22       | 2.2  | 0.000132255 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| LINC00473     | 3.7  | 0.000133217 | 0.04 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| lnc-ESCO2-2   | 1.6  | 0.000136852 | 0.04 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| MGST1         | 3.7  | 0.000145938 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |

|                   |      |                 |      |         |         |
|-------------------|------|-----------------|------|---------|---------|
| DKFZp43<br>4J0226 | 2.3  | 0.0001493<br>07 | 0.04 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| lnc-IL1R2-<br>1   | 3.4  | 0.0001511<br>15 | 0.04 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| lnc-AAAS-<br>1    | 2.1  | 0.0001512<br>84 | 0.04 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| OR2AP1            | -2.0 | 0.0001568<br>13 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| CHST2             | 1.7  | 0.0001600<br>63 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| ESRRG             | -1.4 | 0.0001611<br>85 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| PRG2              | 3.3  | 0.0001617<br>79 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-<br>CHADL-2   | -1.5 | 0.0001630<br>73 | 0.04 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| CD8B              | 1.9  | 0.0001664<br>95 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| EPYC              | 3.7  | 0.0001698<br>79 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| CATSPER<br>1      | 2.3  | 0.0001769<br>67 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| KCNK12            | 2.9  | 0.0001778<br>11 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-<br>THSD4-2   | -2.2 | 0.0001798<br>06 | 0.04 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| C11orf86          | 2.4  | 0.0001829<br>76 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-<br>TCL1B-1   | -2.2 | 0.0001837<br>3  | 0.04 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| SPATA17           | 1.8  | 0.0001844<br>85 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-<br>LRTM2-1   | -2.5 | 0.0001924<br>04 | 0.04 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| GNB5              | 1.6  | 0.0001932<br>29 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| ADCY1             | 2.2  | 0.0002026<br>28 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| PLA2G7            | 2.3  | 0.0002030<br>42 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| CLEC10A           | 1.6  | 0.0002102<br>11 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| HLA-<br>DQA2      | 2.9  | 0.0002118<br>41 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |

---

|                |      |             |      |         |         |
|----------------|------|-------------|------|---------|---------|
| TRIM64         | 3.6  | 0.000212138 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| OR5H14         | 3.0  | 0.000219904 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| MAP3K5         | 1.4  | 0.000220729 | 0.04 | RCIU-EN | mRNA    |
| CD52           | 1.6  | 0.000232085 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA    |
| XLOC_I2_009139 | 2.9  | 0.000238059 | 0.05 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| SLC10A1        | -1.4 | 0.000239942 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA    |
| CHI3L2         | 2.7  | 0.000248108 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA    |
| ALDH1A2        | 3.3  | 0.000256783 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA    |
| CHRD1          | 4.3  | 0.000261357 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA    |
| IQCA1          | 1.7  | 0.000265497 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA    |
| FOXL2          | 2.9  | 0.000275905 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA    |
| PVRIG          | 1.7  | 0.000277524 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA    |
| GAL            | 1.9  | 0.000278683 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA    |
| ERP27          | 1.8  | 0.000282581 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-FAM53A-1   | 1.7  | 0.000286837 | 0.05 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| CENPV          | 1.9  | 0.000303677 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA    |
| FCRL3          | 2.0  | 0.000305278 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA    |
| LOC338797      | -1.2 | 0.000308691 | 0.05 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| lnc-TAF4B-4    | -2.0 | 0.000309577 | 0.05 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| F12            | 2.2  | 0.000335637 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA    |
| FOLH1B         | 2.4  | 0.000335927 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA    |

---

|                |      |             |      |         |                      |
|----------------|------|-------------|------|---------|----------------------|
| RBP4           | 2.8  | 0.000351099 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |
| IL2RB          | 2.7  | 0.000365503 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |
| LOC102723721   | 3.2  | 0.000366813 | 0.05 | RCIU-EN | No<br>Characterizado |
| KLK9           | -1.6 | 0.000367122 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |
| RGL4           | 2.2  | 0.000369389 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |
| SECISBP2L      | -1.3 | 0.000377502 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |
| SCML4          | 2.0  | 0.000378354 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |
| RGS2           | 1.6  | 0.000382116 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |
| PDZK1          | 2.6  | 0.000388702 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |
| HN1            | 1.7  | 0.000390841 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |
| lnc-TNFRSF17-2 | -1.4 | 0.000399423 | 0.05 | RCIU-EN | lnc-RNA              |
| DEPDC7         | 2.1  | 0.000403639 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |
| TIMP3          | 1.4  | 0.000404213 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |
| LOC100131303   | -1.9 | 0.000404918 | 0.05 | RCIU-EN | lnc-RNA              |
| SMPD3          | 1.8  | 0.000408207 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |
| UTS2R          | -2.9 | 0.000408671 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |
| MCEMP1         | 2.3  | 0.000414032 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |
| MAGEB5         | -1.5 | 0.000416586 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |
| lnc-PRKAG2-1   | -1.4 | 0.000424218 | 0.05 | RCIU-EN | lnc-RNA              |
| ARSE           | 1.8  | 0.000430985 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                 |

---

|                  |      |                 |      |         |                         |
|------------------|------|-----------------|------|---------|-------------------------|
| LIPK             | 1.3  | 0.0004381<br>96 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                    |
| PTPN7            | 1.8  | 0.0004384<br>84 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                    |
| lnc-<br>INHBA-1  | -1.4 | 0.0004463<br>65 | 0.05 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| NTN4             | 1.6  | 0.0004478<br>45 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                    |
| PDE6H            | 2.8  | 0.0004492<br>22 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                    |
| KLRC1            | 2.1  | 0.0004519<br>59 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                    |
| ZNF583           | 1.7  | 0.0004528<br>32 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                    |
| PBX4             | 2.0  | 0.0004558<br>67 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                    |
| MAOB             | 3.2  | 0.0004568<br>58 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                    |
| ABLIM2           | 1.9  | 0.0004579<br>18 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                    |
| WNT4             | 2.0  | 0.0004675<br>53 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                    |
| MIR762H<br>G     | 1.5  | 0.0004692<br>2  | 0.05 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| SMOX             | 1.7  | 0.0004715<br>87 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                    |
| GZMB             | 1.9  | 0.0004791<br>54 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                    |
| LINC0096<br>7    | -1.6 | 0.0004792<br>85 | 0.05 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| FNDC3A           | -1.3 | 0.0004820<br>89 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                    |
| LOC1027<br>25314 | -1.6 | 0.0004874<br>2  | 0.05 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| MED4-<br>AS1     | 2.4  | 0.0004896<br>5  | 0.05 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| PPP4R4           | 2.4  | 0.0004919<br>18 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                    |
| LOC1027<br>23906 | -1.3 | 0.0004973<br>15 | 0.05 | RCIU-EN | No<br>caracteriz<br>ado |
| ALOXE3           | -1.7 | 0.0005035<br>93 | 0.05 | RCIU-EN | mRNA                    |

|                      |      |             |      |         |         |
|----------------------|------|-------------|------|---------|---------|
| lnc-OSTF1-1          | -1.9 | 0.000505936 | 0.05 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| CISD3                | -3.2 | 0.000518824 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| CNR1                 | 3.7  | 0.000521978 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| DNASE1L3             | 1.4  | 0.000533908 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| XLOC_l2_011737       | -2.3 | 0.000538059 | 0.06 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| LOC100129917         | -1.6 | 0.000538602 | 0.06 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| LOC100507389         | -1.6 | 0.000548906 | 0.06 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| CILP2                | 2.8  | 0.0005678   | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| GPLY                 | 3.2  | 0.000567926 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| CHI3L1               | 2.1  | 0.00057166  | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| PCDH20               | 3.9  | 0.000573523 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| SKAP1                | 1.7  | 0.000581543 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| C1orf106             | 2.1  | 0.000589736 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| SHC3                 | 1.6  | 0.000595615 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| TUBA3D               | 1.6  | 0.000608416 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| UBD                  | 3.4  | 0.000614629 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| METAP1D              | 1.7  | 0.00061935  | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-RP11-90J19.1.1-3 | -2.2 | 0.000624171 | 0.06 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| FOXL2NB              | 2.9  | 0.000624836 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| SOD2                 | 1.2  | 0.000626595 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| CYTIP                | 1.7  | 0.000630972 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| MARCO                | 1.8  | 0.0006451   | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |

|                       |      |                 |      |         |         |
|-----------------------|------|-----------------|------|---------|---------|
| CD5                   | 2.4  | 0.0006530<br>42 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| CLDN16                | -1.6 | 0.0006534<br>61 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-<br>CYTL1-1       | -1.4 | 0.0006628<br>36 | 0.06 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| LGALS13               | -1.9 | 0.0006677<br>84 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| P4HA3                 | 2.5  | 0.0006843<br>43 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| KLRB1                 | 2.0  | 0.0006849<br>73 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| LCK                   | 1.8  | 0.0006922<br>08 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| HIST1H1<br>E          | -1.8 | 0.0006933<br>74 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| ADORA3                | 1.6  | 0.0007078<br>03 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| KCNIP4-<br>IT1        | -1.2 | 0.0007139<br>75 | 0.06 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| lnc-<br>SLC12A8-<br>1 | 2.1  | 0.0007246<br>88 | 0.06 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| lnc-<br>TMEM88B<br>-1 | -1.7 | 0.0007339<br>56 | 0.06 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| IL17D                 | 1.9  | 0.0007514<br>08 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| ELMOD1                | 1.9  | 0.0007516<br>35 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| TAP1                  | 1.2  | 0.0007557<br>57 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| ERVV-2                | -2.0 | 0.0007665<br>36 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| CXCR3                 | 1.3  | 0.0007887<br>42 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| ASCL2                 | 2.4  | 0.0007910<br>75 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| CCL23                 | 1.9  | 0.0007915<br>43 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| LOC1019<br>29295      | -1.4 | 0.0008047<br>84 | 0.06 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| lnc-<br>MRPE5-1       | -1.9 | 0.0008049<br>13 | 0.06 | RCIU-EN | lnc-RNA |

---

|                    |      |                 |      |         |         |
|--------------------|------|-----------------|------|---------|---------|
| UCHL1              | 2.8  | 0.0008068<br>29 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| AFF1               | -1.5 | 0.0008155<br>01 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| DIRAS2             | 2.9  | 0.0008180<br>17 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| OLAH               | -2.1 | 0.0008181<br>98 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| NDP                | 3.2  | 0.0008221<br>75 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| WBSCR1<br>7        | 2.1  | 0.0008238<br>18 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| TRIM17             | -1.6 | 0.0008251<br>57 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| Inc-<br>NUP88-1    | -1.3 | 0.0008290<br>21 | 0.06 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| ESX1               | 2.1  | 0.0008336<br>69 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| PTPN22             | 1.6  | 0.0008343<br>72 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| GOLGA6L<br>1       | -1.3 | 0.0008401<br>64 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| CHST15             | 1.3  | 0.0008423<br>79 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| LOC1005<br>06384   | -1.4 | 0.0008449<br>89 | 0.06 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| LGALS14            | -1.8 | 0.0008469<br>32 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| CXCL10             | 2.6  | 0.0008490<br>14 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| C1QTNF9            | 2.6  | 0.0008537<br>93 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| LRRN4CL            | 2.8  | 0.0008559<br>67 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| CD3D               | 1.7  | 0.0008721<br>1  | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| USP30-<br>AS1      | 1.6  | 0.0008760<br>07 | 0.06 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| XLOC_I2_<br>006624 | -1.1 | 0.0008770<br>4  | 0.06 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| LINC0111<br>8      | -2.1 | 0.0008772<br>08 | 0.06 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| GPRC5A             | 2.2  | 0.0008884<br>66 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |

---



|               |      |             |      |         |         |
|---------------|------|-------------|------|---------|---------|
| lnc-AMMECR1-1 | 1.3  | 0.000889212 | 0.06 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| CCL18         | 3.1  | 0.000894963 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| MYO16-AS1     | 2.5  | 0.000896026 | 0.06 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| KCNJ16        | 2.3  | 0.000917952 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| SPACA6P-AS    | -1.5 | 0.000918193 | 0.06 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| WT1           | 3.0  | 0.000921661 | 0.06 | RCIU-EN | mRNA    |
| LOC100129345  | -2.1 | 0.000925917 | 0.06 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| SOAT2         | 1.8  | 0.000953932 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| MYBPH         | -1.6 | 0.000965611 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| GREB1         | 1.6  | 0.000972739 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| CD48          | 2.1  | 0.000980416 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-EPETI1-1  | 1.8  | 0.000984275 | 0.07 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| LINC01449     | -1.3 | 0.000996623 | 0.07 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| LSAMP         | 2.0  | 0.00099846  | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| CST7          | 2.2  | 0.000999542 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| SLAMF7        | 2.4  | 0.001005876 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| ITGB3         | -1.6 | 0.001023196 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| PAWR          | -1.4 | 0.001023248 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| SLC1A6        | 2.6  | 0.001035931 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| LOC255187     | -1.4 | 0.001041037 | 0.07 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| GZMA          | 2.0  | 0.001058674 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |

|                      |      |                 |      |         |                         |
|----------------------|------|-----------------|------|---------|-------------------------|
| SH2D1B               | 2.0  | 0.0010750<br>09 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |
| CEND1                | 1.5  | 0.0010864<br>91 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |
| FOLH1                | 2.2  | 0.0010886<br>24 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |
| ZBED6                | -1.4 | 0.0010902<br>31 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |
| EPDR1                | 2.1  | 0.0010985<br>99 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |
| S100A4               | 1.1  | 0.0011135<br>29 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |
| LOC1001<br>32874     | -2.1 | 0.0011144<br>55 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |
| LOC1019<br>26934     | 2.7  | 0.0011147<br>42 | 0.07 | RCIU-EN | No<br>caracteriz<br>ado |
| lnc-<br>PPM1D-1      | -1.3 | 0.0011231<br>04 | 0.07 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| SIGLEC1<br>0         | 1.6  | 0.0011292<br>85 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |
| LAYN                 | 1.2  | 0.0011391<br>14 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |
| lnc-<br>NDUFS5-<br>2 | -1.3 | 0.0011443<br>22 | 0.07 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| TAGAP                | 1.4  | 0.0011478<br>01 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |
| ERV3-1               | -2.1 | 0.0011482       | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |
| TTR                  | 3.5  | 0.0011619<br>67 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |
| STAB2                | 2.8  | 0.0011645<br>41 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |
| NKG7                 | 1.7  | 0.0011753<br>42 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |
| lnc-<br>RABEPK-<br>1 | -1.5 | 0.0011774<br>15 | 0.07 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| DAPP1                | 1.4  | 0.0011992<br>05 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |
| TCL6                 | -1.7 | 0.0012032<br>49 | 0.07 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| HCN2                 | -3.0 | 0.0012263<br>24 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA                    |

---

|               |      |             |      |         |         |
|---------------|------|-------------|------|---------|---------|
| lnc-CEBPB-4   | -1.3 | 0.001228666 | 0.07 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| CSDC2         | 1.7  | 0.001229097 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| SCARNA1       | -2.0 | 0.001239199 | 0.07 | RCIU-EN | other   |
| LOC729739     | 2.5  | 0.001245851 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| RBP1          | 1.6  | 0.001249699 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| AKNA          | -1.2 | 0.001263587 | 0.07 | RCIU-EN | other   |
| CCDC103       | 1.3  | 0.00126561  | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| TMEM63B       | -2.2 | 0.00126689  | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| GLT1D1        | 1.7  | 0.001270943 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| GAS1          | 2.0  | 0.001279032 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| STON1-GTF2A1L | 1.7  | 0.001279075 | 0.07 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| IL15          | 1.8  | 0.001303353 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| KIR2DS2       | 2.0  | 0.001324277 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| SIT1          | 1.6  | 0.001332386 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| LINC00598     | -1.5 | 0.001332667 | 0.07 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| CD69          | 2.3  | 0.001340674 | 0.07 | RCIU-EN | mRNA    |
| LAG3          | 1.9  | 0.001375772 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| PGR           | 1.6  | 0.001389317 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-PHKB-5    | -2.1 | 0.001414276 | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| TMEM27        | 2.0  | 0.001417013 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| GDAP1         | 1.4  | 0.001421656 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| SNORA2B       | -1.6 | 0.001426957 | 0.08 | RCIU-EN | snRNA   |

|                  |      |                 |      |         |               |
|------------------|------|-----------------|------|---------|---------------|
| SGK2             | -1.5 | 0.0014339<br>66 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA          |
| CD6              | 1.7  | 0.0014366<br>98 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA          |
| ITGAD            | 1.2  | 0.0014374<br>49 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA          |
| ANK3             | -1.4 | 0.0014485<br>83 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA          |
| LOC1005<br>07283 | 1.5  | 0.0014552<br>99 | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA       |
| AADAC            | 3.4  | 0.0014577<br>91 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA          |
| UNC5B-<br>AS1    | 1.3  | 0.0014583<br>7  | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA       |
| DEFB103<br>A     | -1.5 | 0.0014620<br>51 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA          |
| FAM110C          | 3.0  | 0.0014723<br>9  | 0.08 | RCIU-EN | mRNA          |
| CRYM             | -1.5 | 0.0014754<br>82 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA          |
| MXRA7            | 1.0  | 0.0014778<br>88 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA          |
| lnc-<br>SOCS5-2  | -1.4 | 0.0014895<br>54 | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA       |
| IL1B             | 2.4  | 0.0014917<br>34 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA          |
| KCND2            | 2.4  | 0.0014987<br>29 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA          |
| LCMT1-<br>AS1    | -1.4 | 0.0015028<br>05 | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA       |
| RXFP1            | 2.4  | 0.0015048<br>98 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA          |
| lnc-<br>RBM22-1  | -2.3 | 0.0015120<br>69 | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA       |
| POTEB3           | -1.8 | 0.0015140<br>42 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA          |
| LOC1001<br>29935 | -1.6 | 0.0015310<br>8  | 0.08 | RCIU-EN | Pseudoge<br>n |
| MAN1A2           | -1.5 | 0.0015500<br>61 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA          |
| CCK              | -3.2 | 0.0015577<br>54 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA          |

---

|                |      |             |      |         |         |
|----------------|------|-------------|------|---------|---------|
| lnc-LGALS14-1  | -1.4 | 0.001588349 | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| KDELR3         | 1.3  | 0.001613918 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| ZNF217         | -1.3 | 0.001617839 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| XLOC_I2_009136 | -1.1 | 0.001622694 | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| ANTXR1         | 1.3  | 0.001623093 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| TIFAB          | 2.0  | 0.001627319 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| SIGLEC17P      | 1.9  | 0.001642548 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| P2RY6          | -1.2 | 0.001644485 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| USP43          | -1.5 | 0.001645638 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| LOC100289120   | -1.3 | 0.001649035 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| HAMP           | 1.3  | 0.001657842 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-FURIN-1    | -1.1 | 0.001681577 | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| TRAF3IP3       | 1.2  | 0.001685608 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| FAM131B        | 1.2  | 0.001710149 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-IKZF2-1    | -1.1 | 0.001713223 | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| lnc-KLF10-1    | -2.0 | 0.001715422 | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| lnc-SULF2-3    | -1.4 | 0.001720239 | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| FHOD3          | 1.9  | 0.001728642 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-SOD2-2     | 1.4  | 0.001735663 | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| LINC00482      | -1.1 | 0.00173744  | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| ITK            | 1.8  | 0.001751737 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA    |

---

|              |      |                 |      |         |                     |
|--------------|------|-----------------|------|---------|---------------------|
| MB           | 1.4  | 0.0017521<br>63 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA                |
| LINC01338    | 1.7  | 0.0017588<br>66 | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA             |
| lnc-DMXL2-1  | -2.2 | 0.0017614<br>88 | 0.08 | RCIU-EN | lnc-RNA             |
| PLIN1        | 1.8  | 0.0017735<br>63 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA                |
| FPR3         | 1.5  | 0.0017934<br>47 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA                |
| ALDH1A1      | 1.8  | 0.0018236<br>75 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA                |
| GDPD1        | -1.6 | 0.0018239<br>88 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA                |
| EGLN3        | 2.1  | 0.0018250<br>48 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA                |
| FAM159B      | 2.1  | 0.0018297<br>28 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA                |
| CXCR2P1      | 1.8  | 0.0018435<br>08 | 0.08 | RCIU-EN | Pseudogene          |
| ANKRD30BP3   | -1.4 | 0.0018765<br>17 | 0.08 | RCIU-EN | mRNA                |
| HSD11B1      | 1.7  | 0.0018809<br>7  | 0.08 | RCIU-EN | mRNA                |
| SMC5-AS1     | -1.2 | 0.0019606<br>51 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA             |
| GPR45        | -1.9 | 0.0019630<br>83 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                |
| NEBL-AS1     | -1.3 | 0.0019787<br>69 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA             |
| SPOCK1       | 2.9  | 0.0019820<br>5  | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                |
| PAEP         | 2.8  | 0.0019839<br>21 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                |
| LOC100293612 | -1.6 | 0.0019927<br>19 | 0.09 | RCIU-EN | No characterization |
| lnc-GLDN-2   | -1.5 | 0.0019940<br>09 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA             |
| GSTM1        | 1.0  | 0.0020010<br>27 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                |
| SLPI         | 2.5  | 0.0020106<br>74 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                |

|                |      |             |      |         |            |
|----------------|------|-------------|------|---------|------------|
| XLOC_I2_010328 | 1.4  | 0.00201087  | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA    |
| lnc-FITM2-1    | -1.4 | 0.002018341 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA    |
| ANKRD20A5P     | -1.5 | 0.002036634 | 0.09 | RCIU-EN | Pseudogene |
| PARP9          | 1.1  | 0.002039687 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA       |
| LOC100507195   | 1.6  | 0.002053712 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA    |
| RNF224         | 1.3  | 0.002059453 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA       |
| LOC101929633   | -1.2 | 0.002066796 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA    |
| lnc-PLCD3-1    | -2.2 | 0.002068612 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA    |
| lnc-FOLR3-1    | -1.4 | 0.00206957  | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA    |
| DUSP26         | 1.3  | 0.00207924  | 0.09 | RCIU-EN | mRNA       |
| FAM105A        | 1.2  | 0.002082458 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA       |
| SPATA13        | -1.0 | 0.002083583 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA       |
| CXCL11         | 2.5  | 0.002092788 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA       |
| MEP1A          | 2.2  | 0.002096283 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA       |
| TMEM200C       | -2.4 | 0.002128741 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA       |
| LOC100287042   | -1.2 | 0.002147064 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA    |
| CCR2           | 2.0  | 0.002147389 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA       |
| SNORA49        | -1.7 | 0.002155563 | 0.09 | RCIU-EN | snRNA      |
| CCDC177        | -1.8 | 0.002166611 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA       |
| FGF11          | 1.3  | 0.002169067 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA       |
| NOS3           | -1.3 | 0.002179362 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA       |
| SLC22A14       | -1.8 | 0.002188382 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA       |

|                             |      |                 |      |         |         |
|-----------------------------|------|-----------------|------|---------|---------|
| PRDM1                       | 1.7  | 0.0022066<br>12 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-<br>AC074091<br>.13.1-1 | -1.9 | 0.0022139<br>82 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| CD300LF                     | 1.7  | 0.0022152<br>76 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| ZAP70                       | 1.6  | 0.0022224<br>49 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| ENTPD3                      | 2.8  | 0.0022262<br>58 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| LAIR2                       | 2.7  | 0.0022275<br>07 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| SLC43A2                     | -1.3 | 0.0022280<br>54 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-<br>EIF2AK3-<br>4       | -1.9 | 0.0022346<br>9  | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| TMEM45A                     | 1.3  | 0.0022443<br>44 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| KRTAP11<br>-1               | -1.7 | 0.0022480<br>62 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-<br>ARAP2-2             | -1.9 | 0.0022956<br>18 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| P2RY8                       | 1.3  | 0.0023008<br>66 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| SLC25A3<br>0                | 1.2  | 0.0023045<br>81 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| LOC1019<br>29353            | -1.3 | 0.0023058<br>33 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| LINC0042<br>6               | 1.7  | 0.0023058<br>94 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| lnc-EMP2-<br>2              | -1.8 | 0.0023278       | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| CAPG                        | 1.7  | 0.0023346<br>17 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| LGALS8-<br>AS1              | -1.6 | 0.0023420<br>77 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| LINC0111<br>9               | -1.4 | 0.0023451<br>52 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| XLOC_l2_<br>000407          | -1.5 | 0.0023754<br>01 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| lnc-PED4-<br>1              | -1.5 | 0.0023867<br>67 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA |

---



|                         |      |                 |      |         |                         |
|-------------------------|------|-----------------|------|---------|-------------------------|
| LOC1019<br>27910        | -1.5 | 0.0023957<br>92 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                    |
| ASMT                    | -1.3 | 0.0023998<br>32 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| LOC1001<br>30238        | -1.5 | 0.0024036<br>14 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| LOC1019<br>29531        | 1.8  | 0.0024142<br>08 | 0.09 | RCIU-EN | No<br>caracteriz<br>ado |
| lnc-<br>S1PR2-1         | -1.3 | 0.0024257<br>34 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| GPR18                   | 1.9  | 0.0024347<br>41 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                    |
| C3                      | 2.1  | 0.0024540<br>63 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                    |
| OXTR                    | 2.4  | 0.0024711<br>23 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                    |
| FAM171B                 | -1.8 | 0.0025026<br>32 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                    |
| B2M                     | 1.1  | 0.0025032<br>43 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                    |
| lnc-<br>C17orf101<br>-1 | -1.4 | 0.0025065<br>67 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| FLJ31356                | 1.5  | 0.0025100<br>17 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| LY6K                    | 1.4  | 0.0025114<br>9  | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                    |
| S100A3                  | 1.8  | 0.0025115<br>1  | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                    |
| XLOC_I2_<br>003882      | -1.4 | 0.0025201<br>77 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| IL18RAP                 | 1.2  | 0.0025210<br>8  | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                    |
| lnc-<br>C11orf30-<br>1  | 1.3  | 0.0025319<br>53 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| EXTL1                   | 1.7  | 0.0025337<br>99 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                    |
| lnc-<br>ARID2-2         | -1.2 | 0.0025365<br>46 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA                 |
| MYOZ1                   | 1.2  | 0.0025374<br>5  | 0.09 | RCIU-EN | mRNA                    |

---

|                    |      |                 |      |         |         |
|--------------------|------|-----------------|------|---------|---------|
| Inc-TMEM132<br>B-4 | -1.8 | 0.0025649<br>31 | 0.09 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| XLOC_l2_<br>013462 | -1.1 | 0.0025669<br>89 | 0.09 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| LOC2833<br>52      | 1.2  | 0.0025746<br>58 | 0.09 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| BAGE               | -1.5 | 0.0025790<br>74 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| TMPRSS4<br>-AS1    | -3.0 | 0.0026014<br>74 | 0.09 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| CTNND2             | 1.4  | 0.0026047<br>25 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| PEPHP1             | 3.5  | 0.0026137<br>61 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| LINC0142<br>4      | -1.4 | 0.0026227<br>75 | 0.09 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| LINC0060<br>6      | -1.0 | 0.0026294<br>49 | 0.09 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| Inc-RAD23B-<br>10  | -1.3 | 0.0026353<br>96 | 0.09 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| CILP               | 2.1  | 0.0026363<br>55 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| Inc-ZNF85-1        | -1.7 | 0.0026520<br>2  | 0.09 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| LOC1001<br>32735   | 1.4  | 0.0026525<br>74 | 0.09 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| IFNG               | 2.2  | 0.0026664<br>73 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| DLK2               | 1.8  | 0.0026800<br>01 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| CCL4L2             | 1.7  | 0.0026846<br>29 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| DPP6               | 1.2  | 0.0026848<br>78 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| ASMTL-<br>AS1      | -1.0 | 0.0027285<br>94 | 0.09 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| LOC1019<br>29241   | -1.4 | 0.0027543<br>42 | 0.09 | RCIU-EN | Inc-RNA |
| C1orf105           | 1.5  | 0.0027565<br>83 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| IKZF3              | 1.7  | 0.0027619<br>62 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |

---

|                       |      |                 |      |         |         |
|-----------------------|------|-----------------|------|---------|---------|
| LINC0092<br>4         | 1.3  | 0.0027633<br>19 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| XLOC_I2_<br>014694    | -1.2 | 0.0027639<br>83 | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| PGM2L1                | 1.1  | 0.0027820<br>11 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| HAGLRO<br>S           | 1.6  | 0.0027825<br>1  | 0.09 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| SNCAIP                | 1.4  | 0.0028063<br>48 | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| ITGAL                 | 1.0  | 0.0028381<br>4  | 0.09 | RCIU-EN | mRNA    |
| ITGB7                 | 1.2  | 0.0028574<br>45 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA    |
| CD22                  | 1.9  | 0.0028592<br>01 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-<br>ZBED1-1       | -1.1 | 0.0028642<br>23 | 0.10 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| lnc-<br>C1QTNF9<br>-3 | -1.5 | 0.0028705<br>11 | 0.10 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| HOXD-<br>AS2          | 2.1  | 0.0028950<br>47 | 0.10 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| SERPINA<br>3          | 2.7  | 0.0029203<br>07 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA    |
| CPB1                  | 1.3  | 0.0029314<br>26 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA    |
| KLK10                 | -1.2 | 0.0029497<br>25 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-<br>MRPE33-<br>1  | -2.1 | 0.0029547<br>02 | 0.10 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| CHD5                  | -1.2 | 0.0029550<br>36 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA    |
| lnc-<br>SPARCL1<br>-1 | -1.2 | 0.0029582<br>11 | 0.10 | RCIU-EN | lnc-RNA |
| CTSW                  | 1.7  | 0.0029628<br>98 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA    |
| ANKRD6                | 1.3  | 0.0029764<br>26 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA    |
| SH3D21                | -1.2 | 0.0029796<br>74 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA    |

---

|              |      |             |      |         |                  |
|--------------|------|-------------|------|---------|------------------|
| IL10         | 1.2  | 0.002995702 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA             |
| ADAMTS6      | -1.8 | 0.002996714 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA             |
| lnc-TRPM7-1  | -1.4 | 0.003004223 | 0.10 | RCIU-EN | lnc-RNA          |
| RXFP3        | -1.4 | 0.003006926 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA             |
| ZNF354C      | -1.1 | 0.003012467 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA             |
| ULK4P3       | -1.2 | 0.003035326 | 0.10 | RCIU-EN | Pseudogene       |
| ULK4         | 2.2  | 0.003053565 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA             |
| VIP          | 1.2  | 0.003068752 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA             |
| CLEC19A      | -1.2 | 0.00308394  | 0.10 | RCIU-EN | lnc-RNA          |
| LINC00892    | 1.3  | 0.00308566  | 0.10 | RCIU-EN | lnc-RNA          |
| LOC100128551 | -1.2 | 0.0030887   | 0.10 | RCIU-EN | other            |
| SLC12A8      | 2.6  | 0.003101781 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA             |
| CD38         | 2.1  | 0.003104344 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA             |
| AQP9         | 1.5  | 0.003107788 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA             |
| lnc-PDE4D-1  | -1.6 | 0.003114914 | 0.10 | RCIU-EN | lnc-RNA          |
| lnc-ABCD3-1  | 1.8  | 0.00311772  | 0.10 | RCIU-EN | lnc-RNA          |
| C12orf42     | 1.8  | 0.003119082 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA             |
| KISS1        | -2.6 | 0.003149994 | 0.10 | RCIU-EN | mRNA             |
| LOC101928015 | 1.1  | 0.003159992 | 0.10 | RCIU-EN | No characterized |
| SLC45A4      | -1.1 | 0.003162301 | 0.10 | RCIU-EN | lnc-RNA          |
| LOC102724593 | 1.3  | 0.003164993 | 0.10 | RCIU-EN | lnc-RNA          |

|                 |      |             |      |            |         |
|-----------------|------|-------------|------|------------|---------|
| LOC729680       | 1.6  | 0.003189533 | 0.10 | RCIU-EN    | other   |
| ADAMTS2         | 1.1  | 0.003198315 | 0.10 | RCIU-EN    | mRNA    |
| SST             | 1.7  | 0.003217733 | 0.10 | RCIU-EN    | mRNA    |
| DEPTOR          | 1.1  | 0.003218237 | 0.10 | RCIU-EN    | mRNA    |
| RAB27B          | 1.1  | 0.003232296 | 0.10 | RCIU-EN    | mRNA    |
| FRA10AC1        | 1.0  | 0.003241445 | 0.10 | RCIU-EN    | mRNA    |
| lnc-C22orf26-4  | -1.5 | 0.003245601 | 0.10 | RCIU-EN    | lnc-RNA |
| lnc-CACNB3-1    | -1.4 | 0.003248979 | 0.10 | RCIU-EN    | lnc-RNA |
| TREM2           | 1.3  | 0.003249867 | 0.10 | RCIU-EN    | mRNA    |
| FXYD3           | -1.1 | 0.003251272 | 0.10 | RCIU-EN    | mRNA    |
| lnc-FAM27D1.1-3 | -1.1 | 0.003281659 | 0.10 | RCIU-EN    | lnc-RNA |
| LOC100505938    | -1.4 | 0.003284798 | 0.10 | RCIU-EN    | lnc-RNA |
| SRD5A1          | 1.2  | 0.00331183  | 0.10 | RCIU-EN    | mRNA    |
| C1QTNF9B        | 1.3  | 0.003333059 | 0.10 | RCIU-EN    | mRNA    |
| lnc-EIF3M-2     | 1.4  | 0.003340305 | 0.10 | RCIU-EN    | lnc-RNA |
| lnc-VCX-2       | -1.3 | 0.003352679 | 0.10 | RCIU-EN    | lnc-RNA |
| VSTM2L          | 1.9  | 0.003377065 | 0.10 | RCIU-EN    | mRNA    |
| PEPHP1          | 6.1  | 7.01E-06    | 0.10 | PE-RCIU-PE | mRNA    |
| PEPHP1          | 7.4  | 1.21E-07    | 0.00 | RCIU-PE    | mRNA    |
| PEPH            | 2.3  | 2.26E-06    | 0.02 | RCIU-PE    | mRNA    |

---

## B. PRODUCTIVIDAD CIENTÍFICA

1. Galaviz-Hernandez, C.; Arámbula-Meraz, E.; **Medina-Bastidas, D.**; Sosa-Macías, M.; Lazalde-Ramos, B.P.; Ortega-Chávez, M.; Hernandez-García, L. The paternal polymorphism rs5370 in the EDN1 gene decreases the risk of preeclampsia. *Pregnancy Hypertens.* 2016.
2. Lara-Ávila, L.; Herrera-Salazar, A.; Morgan-Ortiz, F.; **Medina-Bastidas, D.**; Arámbula-Meráz, E.; Osuna-Ramírez, I. Comparación de las concentraciones séricas maternas de quimasa en pacientes con y sin preeclampsia. *Ginecol. Obstet. Mex.* 2016.
3. Sosa, S.E.Y.; Flores-Pliego, A.; Espejel-Nuñez, A.; **Medina-Bastidas, D.**; Vadillo-Ortega, F.; Zaga-Clavellina, V.; Estrada-Gutierrez, G. New insights into the role of matrix metalloproteinases in preeclampsia. *Int. J. Mol. Sci.* 2017.
4. Eyerahi, B.F.; Mancilla-Herrera, I.; Espino Y Sosa, S.; Ortiz-Ramirez, M.; Flores-Rueda, V.; Ibarguengoitia-Ochoa, F.; Ibañez, C.A.; Zambrano, E.; Solis-Paredes, M.; Perichart-Perera, O.; Sánchez-Martínez, M.; **Medina-Bastidas, D.**; Reyes-Muñoz, E.; Estrada-Gutiérrez G. Macrophage populations in visceral adipose tissue from pregnant women: Potential role of obesity in maternal inflammation. *Int. J. Mol. Sci.* 2018.
5. Hernández-Pacheco, J. A.; Rosales-Zamudio, C. I.; Borboa-Olivares, H.; Espejel-Núñez, A.; Parra-Hernández, S.; Estrada-Gutiérrez, G.; Camargo-Marín L.; **Medina-Bastidas D.**; Guzmán-Huerta, M. (2020). The sFlt-1/PIGF ratio as a triage tool to identify superimposed preeclampsia in women with chronic hypertension in emergency rooms. *Pregnancy Hypertension*, 21, 38-42.
6. **Medina-Bastidas, D.**, Guzmán-Huerta, M., Borboa-Olivares, H., Ruiz-Cruz, C., Parra-Hernández, S., Flores-Pliego, A., y Estrada-Gutierrez, G. (2020). Placental Microarray Profiling Reveals Common mRNA and lncRNA Expression Patterns in Preeclampsia and Intrauterine Growth Restriction. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(10), 3597.

