

Polimorfismo en el gen del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y su asociación con la preeclampsia

Association between vascular endothelial growth factor (VEGF) gene polymorphism and preeclampsia

José Pacheco-Romero^{1,a}, Doris Huerta^{2,b}, Oscar Acosta^{2,c}, Santiago Cabrera^{3,d},
Marlene Vargas^{4,e}

¹ Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, UNMSM.

² Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición.

³ Médico Ginecoobstetra, Hospital Nacional San Bartolomé, Lima, Perú.

⁴ Tecnólogo Médico, Hospital Nacional San Bartolomé, Lima, Perú.

Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos:

^a Profesor Principal, Obstetricia y Ginecología; ^b Profesora Principal, Ciencias Dinámicas; ^c Profesor Auxiliar, Facultad de Farmacia y Bioquímica; ^d Profesor Asociado, Obstetricia y Ginecología; ^e Estudiante de Posgrado.

Resumen

Antecedentes: La preeclampsia (PE) es la primera causa de muerte materna en el mundo y afecta alrededor de 10% de las gestantes en algunas regiones del Perú. Se ha determinado varios genes involucrados en el riesgo de PE, entre ellos el gen del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). **Objetivos:** Estudiar el polimorfismo +936 CT en el gen VEGF y evaluar su asociación con la preeclampsia. **Diseño:** Estudio observacional, relacional (asociativo), tipo casos-control (no experimental). **Institución:** Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. **Participantes:** Gestantes con y sin preeclampsia. **Métodos:** La muestra estuvo conformada por 94 gestantes (45 con PE y 49 controles sin PE) atendidas en el hospital Docente Madre-Niño San Bartolomé. Previo consentimiento informado, se colectó de 3 a 5 mL de sangre de vena antecubital. El ADN fue aislado aplicando métodos estándares. Se evaluó el polimorfismo VEGF mediante técnica PCR-RFLP y electroforesis en geles de agarosa o poliacrilamida. **Principales medidas de resultados:** Asociación entre los genotipos y alelos VEGF con la preeclampsia. **Resultados:** Las distribuciones de los genotipos (CC, CT y TT) en el grupo de Casos se encontraron en 'desequilibrio de Hardy-Weinberg' (existió un factor que estuvo influenciando esa distribución), mientras que los genotipos en el grupo de Controles se encontraron en equilibrio. Las frecuencias de los genotipos VEGF en los casos y controles mostraron diferencias no significativas, aunque en el límite de significancia ($X^2=5,630$, $p=0,060$). El genotipo homocigoto TT fue más frecuente en los casos y los genotipos heterocigotos CT fueron más frecuentes en los controles. Las diferencias en las frecuencias de alelos C y T en los casos y controles no fueron significativas ($X^2=0,614$, $p=0,434$). **Conclusiones:** Preliminarmente, se concluye que no existió asociación entre los genotipos (aunque en el límite de significancia) y alelos VEGF con la preeclampsia, en la muestra estudiada, pero se sugiere la confirmación de estos resultados y el desarrollo del estudio en otras muestras peruanas para confirmar los hallazgos.

Palabras clave: Preeclampsia, VEGF, polimorfismo, gen.

Abstract

Background: Preeclampsia (PE) is the first cause of maternal death in the world and affects about 10% of pregnant women in some Peruvian regions. Various genes are involved in PE risk, including the vascular endothelial gene factor (VEGF). **Objectives:** To study VEGF gene +936 CT polymorphism and to determine its association with preeclampsia. **Design:** Observational, relational (associative), case-control (non-experimental) study. **Setting:** Faculty of Medicine, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Peru. **Participants:** Pregnant women with and without preeclampsia. **Methods:** The sample included 94 pregnant women (45 with PE and 49 controls without PE) attended at Hospital Docente Madre-Niño San Bartolome. Following informed consent, 3-5 mL of blood was collected. DNA was isolated by standard methods. VEGF polymorphism was determined by PCR-RFLP and electrophoresis in either agarose or polyacrylamide gels. **Main outcome measures:** Association between VEGF genotypes and alleles and preeclampsia. **Results:** CC, CT y TT genotypes distribution in the Cases group were in 'Hardy-Weinberg imbalance' (there was a factor influencing that distribution), while genotypes in the Control group were in equilibrium. Cases and controls VEGF genotypes frequencies showed non-significant differences within significance limits ($X^2=5.630$, $p=0.060$). TT homozygote was the most frequent genotype present in cases and CT heterozygote genotypes the most frequent in controls. C and T alleles frequency differences in cases and controls were not significant ($X^2=0.614$, $p=0.434$). **Conclusions:** There was no association between VEGF genotypes (but in significance limit) and alleles and preeclampsia in the sample studied. Results have to be confirmed and studies in other Peruvian subjects are necessary.

Key words: Preeclampsia, VEGF, polymorphism, gene.

INTRODUCCIÓN

La preeclampsia (PE) es la primera causa de muerte materna en el mundo occidental. Es un trastorno multiorgánico que es definido como presión arterial elevada (>140/90 mmHg) y proteinuria en una gestante con 20 semanas o más de gestación ⁽¹⁾. Sin embargo, la presentación clínica y, especialmente, la dinámica del curso clínico puede variar enormemente. Afecta entre 5 y 8% de gestantes, dependiendo de la población estudiada y la definición de PE que se utilice. En nuestro país sobrepasa el 10% en varias regiones ⁽²⁾.

La etiopatogenia de la PE permanece desconocida, pero la placentación inadecuada ha sido sugerida como un posible factor etiológico. Este proceso involucra la infiltración anormal del citotrofoblasto en el endometrio, generando problemas en las arterias -como la pérdida de elasticidad-, lo que puede afectar el remodelado vascular y el aporte sanguíneo al feto, llevando a una hipoxia placentaria local ⁽¹⁾.

Los únicos signos que tenemos para diagnosticar la preeclampsia -la medida de la presión arterial y la muestra de proteinuria- tienen baja sensibilidad y especificidad en predecir el curso de la complicación y el resultado materno-perinatal. La única cura de la complicación es el parto, aunque un diagnóstico temprano y oportuno puede ayudar a disminuir la morbilidad materna y fetal ⁽³⁾. La preeclampsia es también causa importante de morbilidad perinatal y neonatal en nuestro medio, no existiendo hasta el momento manera de predecir tempranamente la ocurrencia de la misma. Representa un problema de salud pública y estudios epidemiológicos relacionan la preeclampsia con enfermedades metabólicas y cardiovasculares ⁽⁴⁾ y cerebrales ⁽⁵⁾, que se presentan más adelante en la vida, con fuerte impacto en discapacidad y gastos en salud.

Numerosos estudios han hallado el rol de la alteración del balance de factores angiogénicos/anti-angiogénicos, como clave en la preeclampsia y en

otros síndromes obstétricos ⁽⁶⁾. Con el estudio de genomas y de epidemiología genética, se ha determinado varios genes involucrados en el riesgo de PE, principalmente los relacionados a función endotelial y angiogénicos, como el gen del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) ⁽⁷⁾. El factor de crecimiento vascular del endotelio (VEGF), que tiene papel crucial en la vasculogénesis y en la permeabilidad vascular, estaría involucrado como un factor inducido por la hipoxia, y que se asociaría a la patogénesis de la preeclampsia ⁽⁸⁾. Varios estudios han sugerido que los niveles decrecientes del VEGF puedan resultar en estrés oxidativo de la placenta en la preeclampsia ⁽⁹⁾.

El VEGF está regulado genéticamente y, por tanto, las variaciones alélicas en el gen del VEGF podrían asociarse con la preeclampsia. También, estarían involucrados otros genes, como el receptor del VEGF tirosinaquinasa parecido al *fms-1* (VEGFR1 = *fms*-like tyrosine kinase1) y el factor de crecimiento placentario (PIGF), presentes en las rutas angiogénicas. Algunos estudios de los polimorfismos en el gen del VEGF, específicamente en la posición +936 C/T ^(10,11), han sido asociados con la preeclampsia, aunque en otras posiciones del gen todavía los resultados no son concluyentes.

En esta perspectiva, y debido a la alta prevalencia de la preeclampsia en nuestro país, es necesario investigar los factores genéticos para la prevención, diagnóstico y tratamiento de este trastorno, por lo que nos propusimos estudiar el polimorfismo +936 CT en el gen VEGF y evaluar su asociación con la preeclampsia.

La hipótesis fue de que existe asociación entre el polimorfismo +936 CT en el gen del factor de crecimiento vascular del endotelio (VEGF) y la preeclampsia. El objetivo general fue estudiar el polimorfismo +936 CT en el gen VEGF y evaluar su asociación con la preeclampsia, en gestantes peruanas, de manera de contar con un biomarcador de diagnóstico temprano de la

preeclampsia en nuestro país, donde este trastorno produce alta morbilidad materna y perinatal, y está en incremento.

La propuesta fue cumplir con la evaluación genética y clínica del 100% de muestras de las gestantes consideradas. El aporte de investigar el polimorfismo en el gen VEGF y evaluar su asociación con la preeclampsia, ha sido considerar o incluir los factores genéticos como una variable importante para comprender el desarrollo de esta condición patológica, de manera que se pueda contar con un biomarcador o factor de riesgo para nuestras poblaciones.

La confirmación de la relación del polimorfismo +936 CT en el gen VEGF y la preeclampsia permitiría un diagnóstico temprano del trastorno en gestantes peruanas y un manejo precoz que permitiera salvar vidas de mujeres embarazadas y sus niños.

MÉTODOS

El tipo de investigación fue relacional (asociativa) con un diseño observacional, tipo casos-control (no experimental).

Para los casos, se incluyó gestantes mayores de 18 años, residentes en Lima y con diagnóstico de preeclampsia (PE) y, para los controles, gestantes sin preeclampsia. La muestra estuvo conformada por 94 gestantes (45 con PE y 49 controles sin PE), que fueron atendidas de su parto en el hospital Docente Madre-Niño San Bartolomé.

Previo consentimiento informado, se obtuvo en una ficha ad hoc los datos personales y clínicos de la gestante y del neonato. Luego, se colectó de 3 a 5 mL de sangre de la vena antecubital. La muestra fue guardada en refrigeración, transportada a los laboratorios del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición, donde la muestra fue procesada.

El análisis genético se inició aislando el ADN a partir de la sangre periférica, siguiendo el método FTA Cards de

Whatman o con otro kit de aislamiento. El polimorfismo, específicamente la variante SNP +936 C/T en el gen VEGF, fue determinado mediante la técnica del PCR-RFLP, utilizando primers (cebadores) específicos y digestión con la enzima NlaII, según lo reportado por Papazoglou ⁽¹¹⁾, y con adecuación a las condiciones del laboratorio de Biología Molecular del CIBN. Los amplificados y productos de la digestión fueron separados por electroforesis en gel de poliacrilamida o agarosa y visualizados con tinción de plata o bromuro de etidio.

Para el análisis estadístico, se realizó los cálculos del promedio y la desviación estándar de los datos bioquímicos, y se determinó las frecuencias alélicas y frecuencias genotípicas bajo la hipótesis del equilibrio de Hardy-Weinberg. Para establecer asociación entre el polimorfismo y las variables categóricas, se realizó la prueba de chi-cuadrado (χ^2) o prueba exacta de Fisher, con un $p < 0,05$. El análisis estadístico se hizo utilizando el paquete estadístico SPSS 17.0 y otros de genética poblacional.

La participación de las personas fue informada, lo cual se reflejó con la firma de la participante en una hoja de Consentimiento Informado, que incluía la finalidad de la investigación, condiciones en que se realizaba, procedimientos, riesgos y beneficios, confiabilidad de los resultados y datos de los investigadores. Se consideró las pautas mencionadas en Helsinki.

RESULTADOS

En los resultados preliminares que presentamos en la tabla 1, las distribuciones de los genotipos CC, CT y TT en el grupo de Casos se encontraron en 'desequilibrio de Hardy-Weinberg' (existió un factor que influenció dicha distribución de genotipos). Los genotipos en el grupo de Controles estuvieron de acuerdo a la hipótesis del equilibrio de Hardy-Weinberg.

Las frecuencias de los genotipos VEGF en los casos y controles mostraron diferencias no significativas, aunque

Tabla 1. Genotipos VEGF y preeclampsia en los casos (con preeclampsia) y controles (sin preeclampsia-PE).

Genotipos VEGF	Casos (Preeclampsia)	Controles (Sin PE)	Total
CC	19	19	38
CT	12	23	35
TT	14	7	21
Total	45	49	94

en el límite de significancia ($X^2=5,630$, $p=0,060$). El genotipo homocigoto TT fue más frecuente en los casos y los genotipos heterocigotos CT fueron más frecuentes en los controles. Las diferencias en las frecuencias de alelos C y T en los casos y controles no fueron significativas ($X^2=0,614$, $p=0,434$).

Se concluyó preliminarmente, y por confirmar, que no existió asociación (aunque en el límite de significancia, $p=0,060$) entre los genotipos VEGF y la preeclampsia, en la muestra estudiada. Prueba $X^2=5,630$, $p=0,060$. En estos resultados, el genotipo homocigoto TT sería un factor genético por considerar en la preeclampsia, pues resultó más frecuente en los casos. El genotipo heterocigoto CT fue menos frecuente en los casos con respecto a los controles.

Con relación a los alelos, en la tabla 2 se observa que no existió asociación entre los alelos VEGF y la preeclampsia en la muestra estudiada. Prueba $X^2=0,614$, $p=0,434$.

DISCUSIÓN

Hasta la actualidad, no se conoce exactamente la génesis de la preeclampsia. Como tal, tampoco tenemos métodos

Tabla 2. Alelos VEGF y preeclampsia, en los casos y controles.

Alelos VEGF	Casos (Preeclampsia)	Controles (Sin PE)
C	50	61
T	40	37
Total	90	98

de prevención y/o tratamiento, y la complicación obstétrica se puede presentar inesperadamente en cualquier gestante ⁽¹²⁾, trayendo como consecuencia alta mortalidad materna y perinatal.

Debido a que existe una asociación con la historia familiar de la gestante que desarrolla preeclampsia, se considera que existe un factor genético en su desarrollo. Hasta el momento se ha descrito 172 genes asociados a la preeclampsia ⁽⁷⁾. Por otro lado, se ha encontrado polimorfismos de genes involucrados en gestantes con preeclampsia, como los de la familia del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF, por sus siglas en inglés) ⁽⁸⁾, los de VEGFA rs699947, VEGFA rs3025039, PGF rs1042886, KDR rs2071559 and KDR rs2305948 ⁽¹³⁾, los carriers de los genotipos -460TT y +405CC ⁽¹⁴⁾, del alelo +936T ⁽¹⁵⁾ y el alelo VEGF (-2578) ⁽¹⁶⁾, variaciones alélicas ⁽¹⁷⁾, posiciones +936C/T ⁽¹¹⁾ y -2578C/A del VEGF 89 ⁽¹⁸⁾, o en sus receptores, como el receptor del dominio de inserción de quinasa (KDR) –receptor principal del factor angiogénico VEGF A ⁽¹⁹⁾. Otros podrían ser hasta protectores, como el VEGF(+405) G ⁽¹⁶⁾ y el VEGF -2578C/A ⁽¹⁸⁾.

En esta perspectiva, debido a la alta prevalencia de la preeclampsia en nuestro país, hemos considerado necesario investigar factores genéticos para la prevención, diagnóstico y tratamiento de este trastorno, por lo que nos propusimos estudiar el polimorfismo +936 CT en el gen VEGF y evaluar su asociación con la preeclampsia.

El estudio lo realizamos en el Hospital Nacional Docente Madre-Niño San Bartolomé, hospital del Ministerio de Salud, con residentado médico, y en el que la incidencia de preeclampsia es alrededor de 10%. La muestra estuvo conformada por 94 gestantes (45 con preeclampsia y 49 controles sin PE), que fueron atendidas en su parto en dicho hospital.

Como resultados, en primer lugar, las distribuciones de los genotipos CC, CT y TT en el grupo de casos estuvieron en desequilibrio de Hardy-Weinberg, lo que señalaba que existía un factor que estaba influenciando la distribución de genotipos. Sin embargo, los genotipos en el grupo de controles sí estuvieron de acuerdo a la hipótesis del equilibrio de Hardy-Weinberg.

Cuando se evaluó las frecuencias de los genotipos VEGF en los casos y controles, se halló diferencias no significativas, aunque en el límite de significancia ($X^2=5,630$, $p=0,060$). El genotipo homocigoto TT fue más frecuente en los casos y los genotipos heterocigotos CT fueron más frecuentes en los controles. Las diferencias en las frecuencias de alelos C y T en los casos y controles no fueron significativas ($X^2=0,614$, $p=0,434$).

Revisando la literatura sobre la relación de los polimorfismos del gen VEGF, aparte de los trabajos que sí hallan asociación –como los señalados anteriormente, y que incluyen aquellos sobre el polimorfismo del alelo +936, como los Shim⁽¹⁵⁾ y Papazoglou⁽¹¹⁾-, en otros más recientes no se ha encontrado dicha asociación con los polimorfismos de VEGF +936C/T⁽¹⁸⁾, en el alelo +813C⁽²⁰⁾, los alelos menores VEGF rs699947, rs1570360, rs2010963 y rs25648⁽²¹⁾, polimorfismos de los genes eNOS, DDAH y VEGF⁽²²⁾, y con los polimorfismos del gen de VEGF -2578C/A, -634G/C; el 936C/T, en estudio, solo fue encontrado asociado con la preeclampsia severa⁽¹¹⁾.

En nuestro trabajo, se concluye preliminarmente, y por confirmar, que no existió asociación (aunque en el límite

de significancia, $p=0,060$) entre los genotipos VEGF y la preeclampsia, en la muestra estudiada. En estos resultados, el genotipo homocigoto TT sería un factor genético por considerar en la preeclampsia, pues resultó más frecuente en los casos. El genotipo heterocigoto CT fue menos frecuente en los casos con respecto a los controles. Y con relación a los alelos, no existió asociación entre los alelos VEGF y la preeclampsia, en la muestra estudiada.

Una posible debilidad en el estudio podría haber sido el tamaño de la muestra. Por lo que se sugiere la confirmación de estos resultados en una muestra mayor y el desarrollo del estudio en otras poblaciones peruanas, para confirmar los hallazgos obtenidos.

La presente investigación la consideramos un aporte a la genética de la preeclampsia en nuestro país, siendo necesario seguir la investigación con otros genes relacionados con esta condición.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Williams P, Broughton F. The genetics of preeclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2011;25(4-4):405-17. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2011.02.007>
- Pacheco J. Preeclampsia/eclampsia. *Revista para el ginecoobstetra. Acta Médica Peruana.* 2006;23(2):100-11.
- Verloren S, Stepan H, Dechend R. Angiogenic growth factors in the diagnosis and prediction of pre-eclampsia. *Clin Sci (Lond).* 2012;122(2):43-52. doi: <http://dx.doi.org/10.1042/CS20110097>.
- Sikkema JM, Bruinse HW, Visser GH, Franx A. [Pregnancy complications as a risk factor for metabolic and cardiovascular disease in later life] *Ned Tijdschr Geneesk.* 2006;150(16):898-902.
- Aukes AM, De Groot JC, Wiegman MJ, Aarnoudse JG, Sanwikarja GS, Zeeman GG. Long-term cerebral imaging after pre-eclampsia. *BJOG.* 2012;119(9):1117-22. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-0528.2012.03406.x>
- Chaiworapongsa T, Romero R, Savasan ZA, Kusanovic JP, Ogge G, Soto E, Dong X, Tarca A, Gaurav B, Hassan SS. Maternal plasma concentrations of angiogenic/anti-angiogenic factors are of prognostic value in patients presenting to the obstetrical triage area with the suspicion of preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2011;24(10):1187-207. doi: <http://dx.doi.org/10.3109/14767058.2011.589932>
- Jebbink J, Wolters A, Fernando F, Afink G, van der Post J, Ris-Stalpers C. Molecular genetics of preeclampsia and HELLP syndrome - A review. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1822(12):1960-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.08.004>
- Galazios G, Papazoglou D, Tsikouras P, Kolios G. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009;22(5):371-8. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/14767050802645035>.
- Kweider N, Fragoulis A, Rosen C, Pecks U, Rath W, Pufe T, Wruck CJ. Interplay between vascular endothelial growth factor (VEGF) and the nuclear factor erythroid 2-related factor-2 (Nrf2): implications for preeclampsia. *J Biol Chem.* 2011;286(50):42863-72. doi: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M111.286880>
- Srinivas SK, Morrison AC, Andrela CM, Elovitz MA. Allelic variations in angiogenic pathway genes are associated with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(5):445:e1-11. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2010.01.040>
- Papazoglou D, Galazios G, Koukourakis MI, Panagopoulos I, Kontomanolis EN, Papatheodorou K, Maltezos E. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and pre-eclampsia. *Mol Hum Reprod.* 2004;10(5):321-4.
- Pacheco J, Wagner P, Williams M, Sánchez S. Enfermedades hipertensivas en la gestación. En: Pacheco J. *Ginecología, Obstetricia y Reproducción.* Lima, REP SAC, 2011:1097-1130.
- Andraweera PH, Dekker GA, Dissanayake VH, Bianco-Miotto T, Jayasekara RW, Roberts CT. Vascular endothelial growth factor family gene polymorphisms in preeclampsia in Sinhalese women in Sri-Lanka. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2013;26(5):532-6. doi: <http://dx.doi.org/10.3109/14767058.2012.743520>
- Nagy B, Savli H, Molvarec A, Várkonyi T, Rigó B, Hupuczai P, Rigó J Jr. Vascular endothelial growth factor (VEGF) polymorphisms in HELLP syndrome patients determined by quantitative real-time PCR and melting curve analyses. *Clin Chim Acta.* 2008;389(1-2):126-31. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2007.12.003>
- Shim JY, Jun JK, Jung BK, Kim SH, Won HS, Lee PR, Kim A. Vascular endothelial growth factor gene +936 C/T polymorphism is associated with preeclampsia in Korean women. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;197(3):271.e1-4. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2007.06.045>
- Bányász I, Szabó S, Bokodi G, Vannay A, Vársárhelyi B, Szabó A, Tulassay T, Rigó J Jr. Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in severe pre-eclampsia. *Mol Hum Reprod.* 2006;12(4):233-6. doi: <http://dx.doi.org/10.1093/molehr/gal024>
- Srinivas SK, Morrison AC, Andrela CM, Elovitz MA. Allelic variations in angiogenic pathway genes are associated with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(5):445.e1-11. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2010.01.040>
- Cunha VM, Grecco RL, Paschoini MC, Silva SR, Ruiz MT, Balarin MA. [Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in pre-eclampsia]. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2011;33(7):158-63. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-72032011000700007>
- Andraweera PH, Dekker GA, Thompson SD, Roberts CT. Single-nucleotide polymorphisms in the KDR gene in pregnancies complicated by gestational hypertensive disorders and small-for-gestational-age infants. *Reprod Sci.* 2012;19(5):547-54. doi: <http://dx.doi.org/10.1177/1933719111428520>

20. Atis A, Oruc O, Aydin Y, Cetincelik U, Goker N. Vascular endothelial growth factor gene +813CC polymorphism of foetus is associated with preterm labour but not with pre-eclampsia in Turkish pregnant women. *Int J Immunogenet.* 2012;39(3):241-6. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-313X.2011.01082.x>
21. Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, Cortes-Flores R, Martinez-Gaytan V, Rivera-Mu-oz JE, Garcia-Mayorga EA, Meza-Lamas E, Rojas-Martinez A, Ortiz-Lopez R, Martinez-Fierro ML. No association between polymorphisms/haplotypes of the vascular endothelial growth factor gene and preeclampsia. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2011;11:35. doi: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2393-11-35>
22. Kim YJ, Park BH, Park H, Jung SC, Pang MG, Ryu HM, Lee KS, Eom SM, Park HY. No association of the genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase, dimethylarginine dimethylaminohydrolase, and vascular endothelial growth factor with preeclampsia in Korean populations. *Twin Res Hum Genet.* 2008;11(1):77-83. doi: <http://dx.doi.org/10.1375/twin.11.1.77>

Investigación en Salud, y XXII Jornadas Científicas Sanfernandinas Estudiantiles, Lima, agosto de 2013.

Estudio realizado como Investigación 2012 Con Asignación a la Investigación y Con Incentivo al Investigador (CON/CON), del Vicerrectorado de Investigación, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Código 120103071.

Correspondencia:

Dr. José Pacheco Romero

Correo electrónico: jpachecoperu@yahoo.com

Trabajo ganador del Primer Puesto en Trabajos de Investigación en Clínica Médica en las XII Jornadas Científicas Sanfernandinas, XV Jornadas de