Artículo original
Ginecol Obstet Mex 2024; 92 (7): 303-314.

https://doi.org/10.24245/gom.v92i7.8334

Relación entre el polimorfismo g-238a del factor de necrosis tumoral alfa y la pérdida gestacional recurrente

Relation of polymorphism g-238a of tumor necrosis factor alpha with recurrent pregnancy loss.

Rafael Gutiérrez Campos,[1] Alejandro Rosas Cabral,[2] María del Consuelo Robles Martínez,[3] Alejandro Reyes Martínez,[1] Elí Daniel García Martínez,[1] Eduardo Vázquez Rodríguez[1]

Resumen

OBJETIVO: Determinar si existe asociación entre los polimorfismos G-308A (rs1800629) y G-238A (rs361525) del promotor del factor de necrosis tumoral alfa y la pérdida gestacional recurrente.

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio observacional, transversal, descriptivo de casos y controles llevado a cabo entre enero de 2020 y diciembre de 2021 en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes y en el Laboratorio de Virología e Ingeniería Genética de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Se estudiaron pacientes con pérdidas gestacionales recurrentes y sin éstas, con embarazo normal (controles).

RESULTADOS: Se estudiaron 300 pacientes: 150 con pérdida gestacional recurrente y 150 con embarazo normal (controles). Se encontraron 19 pacientes (12.6%) con pérdida gestacional recurrente primaria y 131 (87.4%) con pérdida gestacional recurrente secundaria. Las pacientes con pérdida gestacional recurrente tuvieron, significativamente, mayor edad (28 ± 6.43 en comparación con 26 ± 6.07 años; p = 0.006), más abortos (mediana de 2 en comparación con 0; p = 0.049) y menos semanas de gestación (13.18 ± 12.51 en compoaración con 34.55 ± 10.99; p = 0.0001) que las pacientes del grupo control. De los diferentes modelos genéticos, ninguno demostró un incremento significativo de riesgo para G-308A (rs1800629); sin embargo, para G-238A (rs361525) los modelos heterocigoto (RM 4.36, IC95%: 1.2-15.78; p = 0.012) y dominante (RM 4.36, IC95%: 1.42-13.36; p = 0.005) sí mostraron un aumento de probabilidad. En el análisis multivariado ninguna variable clínica demostró significación estadística.

CONCLUSIÓN: En el grupo estudiado, el polimorfismo G-238A (rs361525) del gen TNF-α mostró asociación con la pérdida gestacional recurrente, no así el polimorfismo G-308A (rs1800629).

PALABRAS CLAVE: Pérdida gestacional recurrente; factor de necrosis tumoral alfa; Polimorfismos G-308A (rs1800629); G-238A (rs361525).

Abstract

OBJECTIVE: To determine if there is an association between polymorphisms G-308A (rs1800629) and G-238A (rs361525) of the tumor necrosis factor alpha (TNF-α) with the presence of recurrent pregnancy loss in patients treated at the Women's Hospital of the City of Aguascalientes.

MATERIALS AND METHODS: An observational, case-control study was conducted in 150 patients with recurrent pregnancy loss and 150 patients with normal pregnancies. Different clinical variables were studied and the polymorphisms of the TNF-α tumor gene, G-308A (rs1800629) and G-238A (rs361525). Were genotyped by restriction

[1] Laboratorio de Virología e Ingeniería Molecular.
[2] Departamento de Medicina. Centro de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Aguascalientes.
[3] Servicio de Ginecología, Hospital de la Mujer de Aguascalientes.

Recibido: noviembre 2023

Aceptado: junio 2024

Correspondencia
Alejandro Rosas Cabral
drrosascabral@gmail.com

Este artículo debe citarse como: Gutiérrez-Campos R, Rosas-Cabral A, Robles-Martínez MC, Reyes-Martínez A, García-Martínez ED, Vázquez-Rodríguez E. Relacion del polimorfismo g-238a del factor de necrosis tumoral alfa con pérdida gestacional recurrente. Ginecol Obstet Mex 2024; 92 (7): 303-314.

fragment length polymorphism (RFLP) reaction and the prevalences of the genotypes between both groups was compared, as well as the Odds ratios (OR) of the genotypes and mutated alleles using various genetic models. Multivariate analysis was performed to determine the effect of clinical variables and the presence of these polymorphisms.

RESULTS: Patients with recurrent pregnancy loss were significantly older, had more miscarriages and a lower gestational age than those in the control group. For the G-308A (rs1800629) polymorphism, no significant difference was observed in the prevalences between both groups. For G-238A (rs361525) the prevalence was 6.7% for patients and 1.7% for women with normal pregnancies, with a statistically significant difference (p = 0.004). None of the different genetic models showed a significant increase for G-308A (rs1800629), however, for G-238A (rs361525) the heterozygous (OR 4.36, 95%IC: 1.2-15.78; p=0.012) and dominant (OR 4.36, 95%IC: 1.42-13.36, p=0.005) models did show an increase in said probability. In the multivariate analysis, no clinical variable showed statistical significance.

CONCLUSION: The G-238A (rs361525) polymorphism of the tumor necrosis factor alpha gene shows an association, and a higher risk of recurrent pregnancy loss in our population.

KEYWORDS: Recurrent pregnancy loss; Tumor necrosis factor alpha; G-308A (rs1800629); G238A (rs361525).

ANTECEDENTES

La pérdida gestacional recurrente afecta al 1.9% de las parejas de todo el mundo.[1] Diferentes organizaciones definieron a la pérdida gestacional recurrente como la coexistencia de tres o más pérdidas del embarazo. Algunos de los consensos más recientes modificaron esta definición a dos o más pérdidas del embarazo antes de las 20 o 24 semanas, independientemente de que sean consecutivas o no.[2,3]

Se trata de un problema complejo debido a muy diversas causas: anomalías genéticas, alteraciones anatómicas, endocrinas, infecciosas, trastornos de la coagulación, factores psicológicos, ambientales o inmunológicos.[4]

El embarazo es un estado particular de salud debido al proceso de inmunosupresión necesario para evitar el rechazo histológico del feto y promover que no genere reacciones adversas a lo largo de la gestación.[5,6] Desde el inicio de ésta, las alteraciones en la respuesta inmunitaria pueden afectar de manera importante la implantación, invasión trofoblástica y la supervivencia del feto al ataque de células NK o macrófagos. Esta actividad es regulada, entre otros factores, por el nivel de expresión del factor de necrosis tumoral alfa.[6]

Diversas evidencias experimentales han demostrado que los polimorfismos de nucleótido simple (SNP) -857C/T (rs1799724), -376G/A (rs1800750), -308G/A (rs1800629) y -238G/A (rs361525) del factor de necrosis tumoral alfa afectan sus concentraciones en suero y se relacionan con la pérdida recurrente del embarazo.[6,7] Los más estudiados son los polimorfismos de transición G/A en la posición -308 y -238 de la región promotora, G-308A (rs1800629) y G-238A (rs361525). La asociación de los

https://doi.org/10.24245/gom.v92i7.8334

polimorfismos del gen TNF-α con la pérdida gestacional recurrente se ha estudiado en diversas poblaciones, aunque con desenlaces contradictorios. Hace poco, Hui y colaboradores, en un metanálisis, concluyeron que el polimorfismo del gen TNF-α G-308A (rs1800629) se asocia con la susceptibilidad a la pérdida gestacional recurrente.[8] Sin embargo, en México, Quintero-Ramos y colaboradores reportaron que no hay asociación entre el polimorfismo G-308A (rs1800629) y el aborto habitual.[9]

Con base en las observaciones previas se planteó el objetivo de determinar si existe asociación entre los polimorfismos G-308A (rs1800629) y G-238A (rs361525) del promotor del factor de necrosis tumoral alfa y la pérdida gestacional recurrente en pacientes atendidas en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes, en la región centro de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio observacional, transversal, descriptivo de casos y controles llevado a cabo entre enero de 2020 y diciembre de 2021 en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes y en el Laboratorio de Virología e Ingeniería Genética de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Se estudiaron pacientes con pérdidas gestacionales recurrentes y 150 mujeres con embarazo normal y sin antecedente de pérdidas gestacionales (controles).

Variables de estudio: edad de la madre, embarazos, abortos, semanas de gestación al momento de la toma de muestra sanguínea, antecedentes familiares de trombosis, insuficiencia venosa, diabetes, enfermedad autoinmunitaria, enfermedad endocrina, genotipo G-308A (rs1800629) del promotor del gen TNF-α, y genotipo G-238A (rs361525) del promotor del gen TNF-α.

Criterios de inclusión: pacientes mayores de 18 años, con antecedente de dos o más pérdidas gestacionales espontáneas antes de las 24 semanas, con descarte de alguna causa anatómica corroborada por ultrasonido, síndrome antifosfolipídico, trombofilia hereditaria (factor V Leyden, protrombina G20210A, metilentetrahidrofolato reductasa C677T, inhibidor del activador del plasminógeno-1 4G/5G) o infecciosa (*Chlamydia trachomatis*, toxoplasma, rubéola, citomegalovirus y herpes simple) y que acudieron al servicio de Ginecología del hospital. *Criterios de exclusión:* pacientes con diagnóstico de amenaza de aborto o aborto séptico. *Controles:* pacientes mayores de 16 años, con embarazo en curso normal, antecedente de dos o más hijos sanos, sin abortos o pérdidas fetales, preeclampsia, desprendimiento de placenta, retraso del crecimiento uterino, sin enfermedad autoinmunitaria, sin antecedente de infertilidad y atendidas en el hospital sede del estudio. Se consideró pérdida gestacional recurrente primaria cuando los embarazos previos terminaron en aborto espontáneo y secundaria cuando al menos uno de los embarazos resultó en un nacido vivo o evolucionó a más de las 24 semanas de gestación, según lo descrito por Mateo-Sánez y colaboradores.[4]

Previa autorización del Comité de Ética e Investigación del Hospital de la Mujer se recabó la firma del consentimiento informado de los casos y de las pacientes control. Se tomó una muestra de 3 mL de sangre en tubos con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) para los casos y controles embarazadas y se mantuvieron en refrigeración a 4 °C hasta la práctica de las pruebas moleculares.

Se extrajo y purificó el ADN a partir de las muestras obtenidas. Para el análisis de los polimorfismos se aplicó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa de los fragmentos de restricción de longitud polimórfica (PCR-RFLP). Para la amplificación de los fragmentos mediante reacción en cadena de la polimerasa se utilizaron entre 100 y 150 ng de ADN purificado, con el siguiente programa de reacción: una desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 minutos,

seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 30 segundos, un alineamiento a una temperatura de 64 °C para G-308A (rs1800629) y de 62 °C para G-238A (rs361525) durante 45 segundos, y una extensión a 72 °C por 45 segundos. Al final se incluyó una extensión a 72 °C durante 5 minutos. Luego de la electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, el resultado positivo de la PCR fue de una banda de 107 pares de bases para TNF-α G-308A (rs1800629), y de 152 pares de bases para TNF-α G-238A (rs361525). La genotipificación se llevó a cabo con 10 U de enzima *Nco*I para TNF-α G-308A (rs1800629) y *Hpa*II para TNF-α G-238A (rs361525) con 1 µg de producto de PCR, y digerido a 37 °C durante 4 horas. Al final, el genotipo se determinó mediante la visualización de bandas mediante electroforesis en gel de agarosa al 2.5% conforme a lo indicado en el **Cuadro 1**.

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el programa SPSS (Statistical Software versión 23, IBM Corp., Armonk, NY, USA). Los resultados de las variables cuantitativas se reportan en medias, medianas y desviaciones estándar y las cualitativas en porcentajes del total.

Las prevalencias de cada polimorfismo, por separado en cada grupo de estudio y en la población final, se presentan en frecuencias genotípicas y alélicas, con determinación de posibles desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg mediante una prueba de χ^2 de bondad de ajuste. Para determinar una posible asociación de los genotipos obtenidos y las pérdidas gestacionales recurrentes, se calcularon las razones de momios y los respectivos intervalos de confianza al 95% de cada genotipo y alelo mutado mediante regresión logística binaria u ordinal, con el ajuste necesario de las variables de interferencia. Para los casos se hizo un análisis de regresión logística multivariado para evaluar los factores de forma independiente con la pérdida gestacional recurrente y los polimorfismos de TNF-α estudiados. Para todas las comparaciones se tomó un nivel de significación de 0.05 bilateral, como valor crítico en la regla de decisión.

RESULTADOS

Se estudiaron 300 pacientes: 150 con pérdida gestacional recurrente y 150 con embarazo normal (controles). El análisis de las variables clínicas se muestra en el **Cuadro 2.** Se encontraron 19 pacientes (12.6%) con pérdida gestacional recurrente primaria y 131 (87.4%) con pérdida gestacional recurrente secundaria. Las pacientes con pérdida gestacional recurrente tuvieron, significativamente, mayor edad (28 ± 6.43 en comparación con 26 ± 6.07 años; p = 0.006), más abortos (mediana de 2 en comparación con 0; p = 0.049) y menos semanas de gestación (13.18 ± 12.51 en compoaración con 34.55 ± 10.99; p = 0.0001) que las pacientes del grupo control. Nueve (6%) de las pacientes con pérdida gestacional recurrente tuvieron antecedente de

Cuadro 1. Secuencias de oligonucleótidos utilizados para la amplificación de los polimorfismos G-308A y G-238A y tamaño esperado de las bandas en la electroforesis para cada genotipo

Reacción	Secuencias de oligonucleótidos	Genotipificación (pares de bases)
G-308A	F: 5′-AGG CAA TAG GTT TTG AGG GCC AT-3′ R: 5′-TCC TCC CTG CTC CGA TTC CG-3′	GG: 87, 20 GA: 107, 87, 20 AA: 107
G-238A	F: 5′-AGA AGA CCC CCC TCG GAA CC-3′ R: 5′-ATC TGG AGG AAG CGG TAG TG-3′	GG: 132, 20 GA: 152, 132, 20 AA: 152

https://doi.org/10.24245/gom.v92i7.8334

Cuadro 2. Comparación de las variables sociodemográficas estudiadas en 150 pacientes con pérdida gestacional recurrente y 150 controles con embarazo normal atendidas en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes

Variables	Casos (n = 150)	Controles (n = 150)	p
Edad promedio ± DE (años)	28 ± 6.43	26± 6.07	0.006
Mediana de embarazos (rango)	4 (2-10)	3 (1-8)	0.100
Mediana de partos (rango)	1 (0-4)	2 (0-7)	0.750
Mediana de abortos (rango)	2 (2-7)	0 (0-2)	0.049
Promedio de semanas de gestación ± DE	13.18 ± 12.51	34.55 ± 10.99	**0.0001**
Antecedente heredofamiliar de trombosis	15 (10.0%)	12 (8.0%)	0.75
Antecedente heredofamiliar de insuficiencia venosa	26 (17.3%)	27 (18.0%)	0.880
Antecedente heredofamiliar de diabetes	71 (47.3%)	78 (52.0%)	0.419
Antecedente de enfermedad autoinmunitaria	3 (2.0%)	8 (5.3%)	0.25
Antecedente de trombosis	4 (2.7%)	1 (0.66%)	0.25
Antecedente de enfermedad endocrina	9 (6.0%)	6 (4.0%)	0.629

Para las variables cuantitativas se utilizó una prueba de t de Student a dos colas, mientras que para las cualitativas se utilizó la prueba de χ^2 de Pearson y prueba de la mediana. DE = desviación standard.

enfermedad endocrina (7 con hipotiroidismo y el resto con alteraciones en el metabolismo de la glucosa). Las 6 pacientes con embarazos normales tenían una enfermedad endocrina (4 hipotiroidismo y 2 alteraciones en el metabolismo de la glucosa; 6 en comparación con 4%; p = 0.629). En el resto de las variables clínicas tampoco se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos.

Se genotipificaron las 300 muestras recolectadas para ambos polimorfismos del gen TNF-α. En las **Figuras 1 y 2** se exponen los reportes de las electroforesis de los fragmentos digeridos y genotipificados conforme al patrón de restricción; como control de la restricción se utilizó el fragmento obtenido por reacción en cadena de la polimerasa sin digerir.

En los **Cuadros 3 y 4** se encuentran los resultados de la genotipificación de algunas de las pacientes separadas por grupo de estudio y genotipo encontrado. El cálculo de las frecuencias alélicas se realizó a partir de las frecuencias genotípicas. Se consideró que cada individuo homocigoto aporta dos alelos del mismo tipo respectivo, y cada paciente heterocigota contribuye con solo uno de cada alelo. Además, cada cuadro incluye el resultado del análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg para cada polimorfismo. Se tomaron como referencia las frecuencias genotípicas esperadas del grupo control y se contrastaron con la población total.

Para el polimorfismo G-308A (rs1800629) **(Cuadro 3)** se encontró que la prevalencia del alelo mutado (A) en pacientes con pérdida gestacional recurrente fue de 9.3% contra 5.7% de las pacientes con embarazos normales (p = 0.088). En las pacientes del grupo control solo una tuvo genotipo homocigoto mutado AA (0.7%) en comparación con 6 del grupo de pacientes con pérdida gestacional recurrente (4.0%; p = 0.127). En la comparación entre genotipos y alelos no hubo diferencias significativas y el polimorfismo se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg para su distribución genotípica (p = 0.627).

En relación con el polimorfismo G-238A (rs361525) **(Cuadro 4)** se encontraron 5 alelos mutados (A) en el grupo de mujeres con embara-

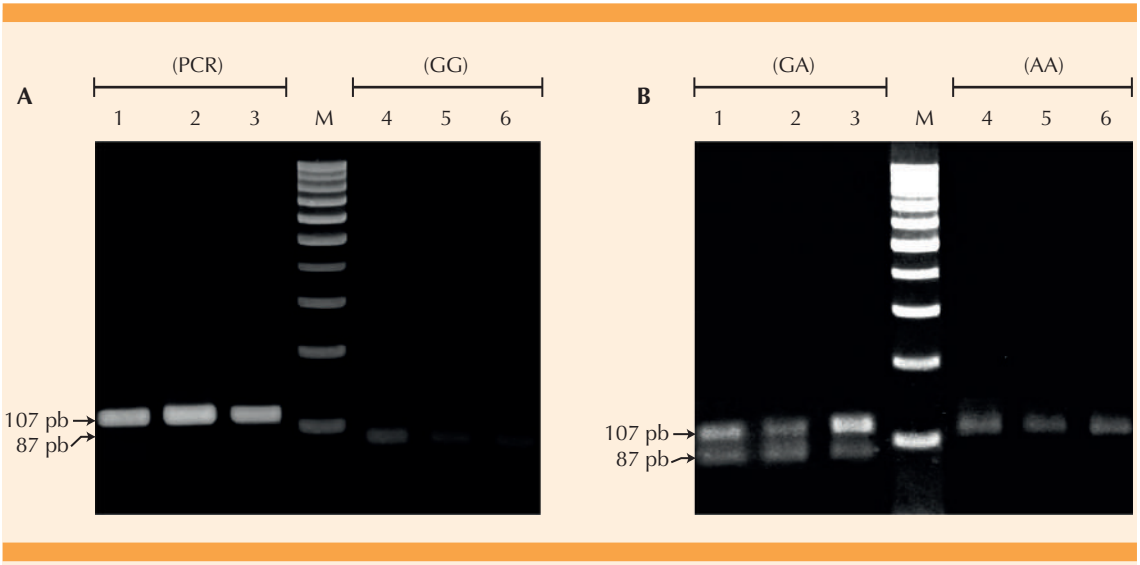


Figura 1. Separación electroforética de los amplicones de PCR y su digestión con *NcoI* para el polimorfismo G-308A del gen TNF. Cada resultado posible de genotipificación se muestra por triplicado. **Panel A:** carriles 1-3, control PCR; carril M, marcador de peso molecular 100 a 1000 pares de base; carriles 4-6, genotipo GG (silvestre). **Panel B:** carriles 1-3, genotipo GA (heterocigoto); carril M, marcador de peso molecular 100 a 1000 pares de base; carriles 4-6, genotipo AA (homocigoto mutado).

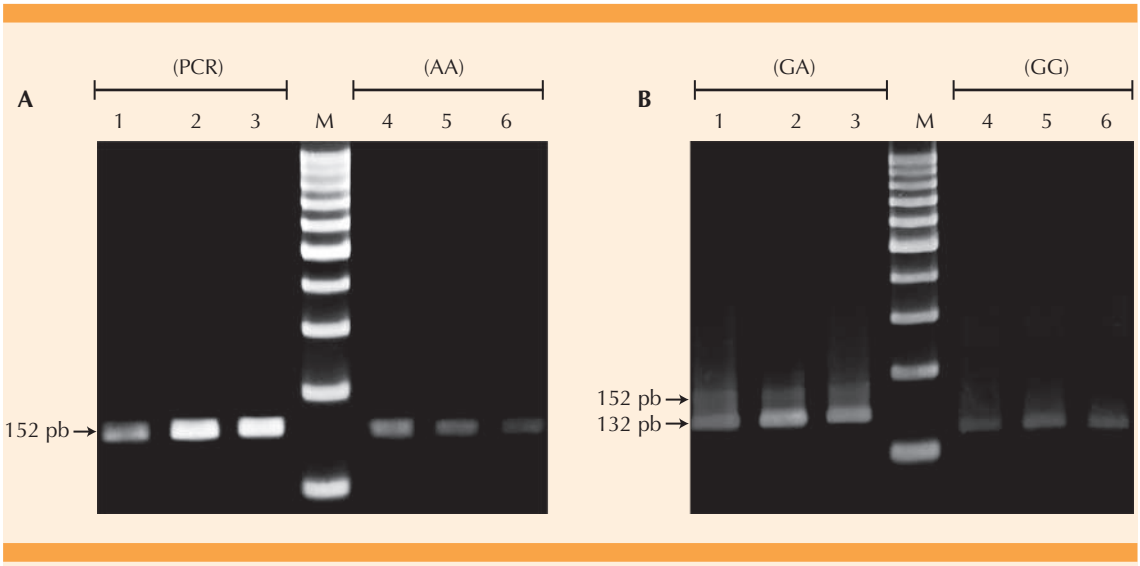


Figura 2. Separación electroforética de los amplicones de PCR y su digestión con la enzima *HpaII* para el polimorfismo G-238A del gen TNF. Cada resultado posible de genotipificación se muestra por triplicado. **Panel A:** carriles 1-3, control PCR (heterocigoto); carril 4, marcador de peso molecular 100 a 1000 pares de base; carriles 5-7 genotipo AA (homocigoto mutado). **Panel B:** carriles 1-3, genotipo GA (heterocigoto); carril 4, marcador de peso molecular 100 a 1000 pares de base; carriles 5-7, genotipo GG (silvestre).

https://doi.org/10.24245/gom.v92i7.8334

Cuadro 3. Prevalencia del polimorfismo G-308A expresado en frecuencias genotípicas y alélicas en 150 pacientes con pérdida gestacional recurrente y 150 controles atendidas en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes

Genotipo-alelo	Casos n = 150 (%)	Controles n = 150 (%)	p
GG	128 (85.3)	134 (89.3)	0.127
GA	16 (10.7)	15 (10.0)	
AA	6 (4.0)	1 (0.7)	
G	272 (90.7)	283 (94.3)	0.088
A	28 (9.3)	17 (5.7)	
EHW		0.627	Equilibrio

La comparación intergrupal se estableció mediante χ^2. EHW: equilibrio de Hardy-Weinberg, contrastado contra la hipótesis nula de no desviación del equilibrio.

Cuadro 4. Prevalencia del polimorfismo G-238A expresado en frecuencias genotípicas y alélicas en 150 pacientes con pérdida gestacional recurrente y 150 controles atendidas en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes

Genotipo-alelo	Casos n = 150 (%)	Control n = 150 (%)	p
GG	134 (89.3)	146 (97.3)	**0.021**
GA	12 (8.0)	3 (2.0)	
AA	4 (2.7)	1 (0.7)	
G	280 (93.3)	295 (98.3)	**0.004**
A	20 (6.7)	5 (1.7)	
EHW		**<0.001**	**Sin equilibrio**

La comparación intergrupal se estableció mediante χ^2. EHW: equilibrio de Hardy-Weinberg, contrastado contra la hipótesis nula de no desviación del equilibrio.

zos normales (1.7%) y 20 en el grupo de pérdida gestacional recurrente (6.7%; p = 0.004). En el grupo de mujeres con embarazos normales solo se encontró una paciente con genotipo homocigoto mutado (0.7%) y 4 en el de pacientes con pérdida gestacional recurrente (2.7%). A diferencia del polimorfismo G-308A (rs1800629) la proporción de heterocigotos entre las pacientes con pérdida gestacional recurrente fue cuatro veces mayor que las del grupo control (8.0 en comparación con 2.0%). En este polimorfismo sí se encontraron diferencias significativas en el análisis por genotipos y en el de los alelos (p = 0.021 y 0.004, respectivamente); además, el polimorfismo se encontró fuera del equilibrio de Hardy-Weinberg en esta población particular (p < 0.001).

Con las distribuciones genotípicas y alélicas se calcularon las razones de momios (RM) de probabilidad de riesgo de pérdida gestacional recurrente. Se siguieron cuatro diferentes modelos genéticos: genotípico (homocigoto y heterocigoto), dominante y recesivo (para cada polimorfismo por separado). Según este análisis, se encontró que para ninguno de los cuatro modelos genéticos, el polimorfismo G-308A (rs1800629) tuvo una correlación significativa de probabilidad de riesgo de pérdida gestacional recurrente (la prueba de hipótesis en todos los casos fue bilateral. Además, los intervalos de confianza en todas las situaciones cruzaron el valor de 1) **(Cuadros 5, 6 y 7).** La situación es diferente para G-238A (rs361525) en donde 2 escenarios de los 4 posibles arrojaron un valor de RM significativo. Esto

Cuadro 5. Razón de momios ajustada para el incremento de la probabilidad de riesgo de pérdida gestacional recurrente calculada individualmente para cada polimorfismo según los modelos genéticos: genotípico homocigoto, genotípico heterocigoto, dominante o recesivo

Modelo genético		G-308A RM (IC95%)	p	G-238A RM (IC95%)	p
Heterocigoto	GA *vs* GG	1.12 (0.53-2.35)	0.386	4.36 (1.20-15.78)	0.012
Homocigoto	AA *vs* GG	6.28 (0.75-52.9)	0.045	4.36 (0.48-39.48)	0.095
Dominante	(GA + AA) *vs* GG	1.44 (0.72-2.86)	0.150	4.36 (1.42-13.36)	0.005
Recesivo	AA *vs* (GG+GA)	6.21 (0.74-52.2)	0.046	4.08 (0.45-36.96)	0.105

Cuadro 6. Frecuencia de las diferentes variables estudiadas en 150 pacientes con pérdida gestacional recurrente atendidas en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes

Variables	Pérdida gestacional recurrente primaria n = 19	Pérdida gestacional recurrente secundaria n = 131	p
Promedio de semanas de gestación ± DE	15.59 ± 10.37	16.8 ± 12.82	0.728
Antecedentes heredofamiliares de trombosis	3 (15.78%)	12 (9.16%)	0.5
Antecedentes heredofamiliares de insuficiencia venosa	5 (26.31%)	21 (16.0%)	0.5
Antecedentes heredofamiliares de diabetes	15 (18.9%)	56 (42.74%)	0.005
Antecedente de enfermedad autoinmunitaria	2 (10.52%)	1 (0.76%)	0.005
Antecedente de trombosis	0 (0%)	4 (3.05%)	0.5
Antecedente de enfermedad endocrina	0 (0%)	9 (6.87%)	0.5
G308A mutado	4 (10.25%)	18 (13.74%)	0.5
G238A mutado	1 (5.3%)	15 (11.45%)	0.5

se traduce en una probabilidad mayor de riesgo: el genotipo GA en el modelo genotípico heterocigoto (RM 4.36; IC95%: 1.2-15.78; p = 0.012), y el conjunto GA + AA en el modelo dominante (RM 4.36; IC95%: 1.42-13.36; p = 0.005). Para los dos casos, el valor de la RM obtenido fue similar, y en todos los casos el nivel de significación fue menor al crítico.

En las pacientes con pérdida gestacional recurrente se estudiaron las diferentes variables clínicas respecto de la pérdida gestacional recurrente primaria o secundaria y se encontró una diferencia significativa solo en el antecedente de enfermedad autoinmunitaria (10.52% en pérdida gestacional recurrente primaria *vs* 0.76% en pérdida gestacional recurrente secundaria, p = 0.005) y en el antecedente heredofamiliar de diabetes mellitus (18.9% en pérdida gestacional recurrente primaria en comparación con 42.74% en la variedad secundaria). Ninguno de los polimorfismos estudiados fue significativo para pérdida gestacional recurrente primaria en comparación con la secundaria.

Además, se hizo un análisis multivariado de los polimorfismos de TNF-α estudiados en las pacientes con pérdida gestacional recurrente y los diferentes factores considerados en el estudio. En el **Cuadro 7** puede observarse que ninguno de los factores considerados fue estadísticamente significativo.

https://doi.org/10.24245/gom.v92i7.8334

Cuadro 7. Análisis multivariado de las diferentes variables estudiadas en 150 mujeres atendidas en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes, calculadas individualmente para cada polimorfismo

Variable	G308A RM (IC95%)	p	G238A RM (IC95%)	p
Semanas de gestación	1.006 (0.971-1.042)	0.661	1.003 (0.956-1.052)	0.910
Antecedentes heredofamiliares de trombosis	0.633 (0.193-2.838)	0.740	0.324 (0.074-1.420)	0.135
Antecedentes heredofamiliares de insuficiencia venosa	0.633 (0.237-1.686)	0.360	0.912 (0.224-3.708)	0.897
Antecedentes heredofamiliares de diabetes	0.577 (0.235-1.413)	0.229	1.406 (0.448-4.414)	0.559
Antecedente de enfermedad autoinmunitaria	0.386 (0.22-6.64)	0.512	0.592 (0.139 -2.522)	0.999
Antecedente de trombosis	0.257 (0.024-2.740)	0.261	0.214 (0.015-2.977)	0.251
Antecedente de enfermedad endocrina	0.335 (0.63-1.77)	0.199	1.036 (0.1-10.687)	0.976
Edad de la madre	1.024 (0.938-1.11)	0.598	0.98 (0.882-1.090)	0.711
Embarazos	1.055 (0.466-2.38)	0.898	1.318 (0.511-3.40)	0.569
Abortos	0.818 (0.369-1.81)	0.621	0.945 (0.391-2.283	0.901
Partos	0.833 (0.294-2.35)	0.730	0.967 (0.313-2.987)	0.954

DISCUSIÓN

Para clarificar si existe una posible asociación entre los polimorfismos del promotor del gen TNF-α, G-308A (rs1800629) y G-238A (rs36525) con las pérdidas gestacionales recurrentes en la población estudiada, se comparó la prevalencia de los polimorfismos entre pacientes con antecedente de pérdida gestacional recurrente con un grupo control de pacientes sin ese antecedente y embarazos normales. La prevalencia encontrada del alelo mutado (A) en las pacientes con pérdida gestacional recurrente (9.53%) para el polimorfismo G308A (rs1800629) estuvo en el rango referido en una revisión reciente de Alonso-Barragán y colaboradores[10] quienes lo reportan entre 4.1 y 22.5% en poblaciones de diferentes países. Resultó mayor que la reportada previamente por Quintero-Ramos y su grupo[9] y menor que la de Sudhir en población de la India (34%).[11]

La prevalencia del alelo mutado (A) para el polimorfismo G238A (rs36525) encontrada en pacientes con pérdida gestacional recurrente (6.7%) del estudio aquí publicado se ubica en el rango comunicado por Alonso-Barragán y coautores de entre 2 y 23.7%.[10]

En investigaciones originales, en revisiones y metanálisis se reportan resultados discutibles respecto de la asociación o no entre los polimorfismos de TNF-α aquí estudiados y la pérdida gestacional recurrente.

Tanto Stavros y colaboradores en población griega,[12] Ma y su grupo en población china,[13] Palmirotta y coautores en mujeres italianas[14] y Quintero-Ramos y su equipo[9] como los autores de este artículo no encontramos una asociación entre el polimorfismo G-308A (rs1800629) y la pérdida gestacional recurrente, a pesar de haberlo estudiado con diferentes modelos genéticos.

A diferencia de nosotros, otros autores sí han encontrado asociación entre el polimorfismo G308A (rs1800629) y la pérdida gestacional recurrente en poblaciones de la India, Brasil y Polonia.[11,15,16]

Por lo que se refiere al polimorfismo G-238A (rs36525) nosotros, al igual que Aboutorabi y su grupo, en población iraní[17] y Zammiti y colaboradores en mujeres tunecinas,[18] sí encontramos una asociación entre este polimorfismo y la pérdida gestacional recurrente. En cambio, Kim y coautores y otros autores reportan que este polimorfismo no tiene asociación con la pérdida gestacional recurrente en población coreana, griega e italiana.[12,19,20,21]

En un metanálisis de Dong y colaboradores,[19] en relación con el polimorfismo G-308A (rs1800629), que se estratificó entre poblaciones caucásica y asiática concluyeron que, si bien no existía una relación global entre G-308A (rs1800629) y la pérdida gestacional recurrente al momento de llevar a cabo la estratificación por grupo étnico, sí encontraron una asociación en la población asiática, pero no en la caucásica. Este estudio arrojó parte de la evidencia inicial de que la relación de los polimorfismos de TNF-α con el aborto de repetición podría estar influida por el grupo étnico,[19] lo que explicaría, en parte, que en un grupo tan heterogéneo como la población mexicana esas correlaciones no sean tan fáciles de encontrar debido al mestizaje.

El estudio de Li y su grupo se centró en el polimorfismo G-308A (rs1800629), exclusivamente referido a poblaciones asiáticas.[20] Ese metanálisis tuvo la particularidad de llevar a cabo, además, un estudio de riesgo, con análisis de cuatro modelos genéticos de manera independiente: genotípico, dominante, recesivo y aditivo. Además de encontrar evidencia de una probable asociación global entre G-308A (rs1800629) y el aborto de repetición, este metanálisis confirmó que la elección del modelo genético es decisiva para interpretar los resultados de un estudio similar, incluso observacional.[20] Esto se confirmó en un metanálisis más reciente, donde además de los polimorfismos G-308A (rs1800629) y G-238A (rs36525) se consideraron otros. Los autores del metanálisis concluyeron que G-308A (rs1800629) podría estar asociado con la pérdida gestacional recurrente, incluso en poblaciones no asiáticas, mientras que G-238A (rs36525) se encontraría más limitado a tener influencia en poblaciones asiáticas y vecinas.[21]

En el estudio aquí publicado se encontró que si bien G-308A (rs1800629) no incrementó la probabilidad de riesgo en las pacientes con pérdida gestacional recurrente, el G-238A (rs361525) sí aumenta el riesgo y bajo dos modelos genéticos diferentes donde los resultados que tienen significación estadística denotan, en común, la existencia de un solo alelo mutado (GA del genotípico heterocigoto, GG+GA del dominante), mientras que el genotipo homocigoto mutado no tiene mayor probabilidad de riesgo por sí mismo; hallazgo similar al reportado por Liu C y colaboradores en población china.[22] Se deduce, entonces, que el alelo A en la posición -238 (rs361525) del gen TNF-α podría tener correlación con una mayor probabilidad de pérdida gestacional recurrente. La existencia de un segundo alelo mutado en el otro autosoma no incrementa más esa probabilidad, al menos desde el punto de vista observacional.

Al estratificar a las pacientes en pérdida gestacional recurrente primaria y secundaria se encontró que el antecedente heredofamiliar de diabetes mellitus es significativamente mayor entre las pacientes con pérdida gestacional recurrente secundaria, que en las pacientes con la variedad primaria. Si bien no se encontró una diferencia significativa entre el total de pacientes con pérdida gestacional recurrente y el grupo control, ello pudiera explicarse por las pocas pacientes con la variedad primaria incluidas en el estudio, y estar en línea con lo referido por Hantoushzadeh y colaboradores,[23] quienes reportan un vínculo importante entre las pruebas anormales del metabolismo de la glucosa y la pérdida gestacional recurrente aunque, de nuevo, valga reiterar que en el estudio no se recurrió a ninguno de los

https://doi.org/10.24245/gom.v92i7.8334

parámetros para búsqueda de alteraciones en el metabolismo de la glucosa.

En las pacientes con pérdida gestacional recurrente primaria se encontró que también padecían una enfermedad autoinmunitaria en proporción significativamente mayor que las pacientes con la variedad secundaria (10.52 en comparación con 0.76%; p = 0.005), lo que difiere de lo informado por Ticconi y su grupo,[24] quienes refieren que no hay diferencias en este sentido entre las pacientes con pérdida gestacional recurrente primaria o secundaria; esto a pesar de que la cantidad de pacientes aquí analizada haya sido escasa.

Nosotros, además, hicimos un análisis multivariado en nuestras pacientes con pérdida gestacional recurrente primaria para determinar si algún otro factor clínico posee mayor efecto que el polimorfismo G238A del TNF-α, y no se encontró significación en los efectos de las variables clínicas ni en las posibles asociaciones entre ellas.

Limitaciones del estudio: su naturaleza observacional, la pequeña cantidad de pacientes incluidas y corresponder a un solo centro hospitalario.

Lo encontrado en el estudio sugiere que la participación del gen TNF-α en la pérdida gestacional recurrente es compleja y aún no comprendida del todo. Los diferentes estudios muestran evidencia contradictoria en asociación y en efecto. Sin duda se requiere información adicional de la prevalencia de estos polimorfismos en la República Mexicana y sus estados y el análisis correspondiente en protocolos de estudio.

CONCLUSIÓN

En el grupo estudiado, el polimorfismo G-238A (rs361525) del gen TNF-α mostró asociación con la pérdida gestacional recurrente, no así el polimorfismo G-308A (rs1800629).

REFERENCIAS

1. Bagkou Dimakou DB, Lissauer D, Tamblyn J, Coormarasamy A, et al. Understanding human immunity in idiopathic recurrent pregnancy loss. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2022; 270: 17-29. https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.12.024
2. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. Fertility and Sterility 2020; 113 (3). https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.11.025
3. Hong LY, Marren A. Recurrent pregnancy loss. A summary of international evidence-based guidelines and practice. Aust J Gen Pract 2018; 47 (7): 432-36. https://doi.org/10.31128/AJGP-01-18-4459
4. Mateo-Sanez HA, Mateo-Sanez E, Hernández-Arroyo L, Rivera-Ramírez P, et al. Pérdida recurrente del embarazo: revisión bibliográfica. Ginecol Obstet Mex 2016; 84 (8): 523-534. PMID 29424514.
5. Argilés JM, Carbó N, López-Soriano FJ. TNF and pregnancy: the paradigm of a complex interaction. Cytokine Growth Factor Rev 1997; 8 (3): 181-88. https://doi.org/10.1016/s1359-6101(97)00012-9
6. Dai FF, Hu M, Zhang YW, Zhu RH, et al. TNF-α/anti-TNF-α drugs and its effect on pregnancy outcomes. Expert Rev Mol Med 2022; 24: e26. https://doi.org/10.1017/erm.2022.18
7. Fragoso JM, Vargas Alarcón G, Jiménez Morales S, Reyes Hernández OD, et al. El factor de necrosis tumoral α (TNF-α) en las enfermedades autoinmunes (EA): biología molecular y genética. Gac Med Mex 2014; 150: 334-44.
8. Hui HL, Xing HX, Jing T, Kai-Yue Z, et al. Association of TNF-α genetic polymorphisms with recurrent pregnancy loss risk: a systematic review and meta-analysis. Reprod Biol Endocrinol 2016; 14: 6. https://doi.org/10.1186/S12958-016-0140-6
9. Quintero-Ramos A, Valdez-Velázquez LL, Hernández G, et al. Assessment of five thrombophilic genetic polimorphisms among couples with habitual abortion. Gac Med Mex 2006; 142 (2): 95-8.
10. Alonso-Barragán SA, Gutiérrez-Amavizca BE, Salazar-Dávalos IM, Aceves-Aceves MA, et al. Polimorfismos -308 g>A y -238 G>A del gen TNF-α en aborto recurrente. Rev Med Cos Rica y Cent 2014; LXXI (611): 431-436.
11. Sudhir N, Badaruddoza Beri A, Kaur A. Association of tumor necrosis factor-alpha 308G/A polymorphism with recurrent miscarriages in women. J Hum Reprod Sci 2016; 9 (2): 86-9. https://doi.org/10.4103/0974-1208.183516
12. Stavros S, Mavrogianni D, Papamentzelopoulou M, Basamakis E, et al. Association of tumor necrosis factor-α -308G>A, -238G>A and -376G>A polymorphisms with recurrent pregnancy loss risk in the Greek population. Fertil Res Pract 2021; 10: 7 (1): 9. https://doi.org/10.1186/S40738-021-00101-X

13. Jianting Ma, Xingguang Zhang X, Gang He, Chunlin Yang. Association between TNF, IL1B, IL6, IL10 and IFNG polymorphisms and recurrent miscarriage: a case control study. Reprod Biol Endocrinol 2017; 15 (1): 83. https://doi.org/10.1186/S12958-017-0300-3
14. Palmirotta R, La Farina F, Ferroni P, et al. Polimorfismos promotores del gen TNFA y susceptibilidad a la pérdida recurrente del embarazo en mujeres italianas. Reprod Sci 2010; 17 (7): 659-66. https://doi.org/10.1177/1933719110366603.
15. Daher S, Shulzhenko N, Morgun A, et al. Asociaciones entre los polimorfismos del gen de las citoquinas y la pérdida recurrente del embarazo. J Reprod Immunol 2003; 58 (1): 69-77. https://doi.org/10.1016/S0165-0378(02)00059-1
16. Wysocka U, Sakowicz A, Jakubowski L, et al. Association between idiopathic recurrent pregnancy loss and genetic polymorphisms in cytokine and matrix metalloproteinase genes. Ginekol Pol 2021; 92 (6): 440-45. https://doi.org/10.5603/GP. a2021.0089
17. Aboutorabi R, Behzadi E, Javad Sadegh M, et al. The Study of Association Between Polymorphism of TNF-α Gene's Promoter Region and Recurrent Pregnancy Loss. J Reprod Infertil 2018; 19 (4): 211-18. PMID:30746336
18. Zammiti W, Mtiraoui N, Finan RR, et al. Tumor necrosis factor and lymphotoxin a haplotypes in idiopathic recurrent pregnancy loss. Fertility and Steility 2009; 91 (5): 1903-8. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.01.090.
19. Dong J, Li J, Zhou G, et al. No association between TNF-α -308G/A polymorphism and idiopathic recurrent miscarriage: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. PLoS One 2016; 11 (11): e0166892. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166892
20. Li HH, Xu XH, Tong J, et al. Association of TNF-α genetic polymorphisms with recurrent pregnancy loss risk: a systematic review and meta-analysis. Reprod Biol Endocrinol 2016; 14: 6. https://doi.org/10.1186/s12958-016-0140-6.
21. Kim JA, Bang CH, Song GG, et al. Tumor necrosis factor alpha gene polymorphisms in women with recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. Human Fertility 2020; 23 (3): 159-169. https://doi.org/10.1080/14647273.2018.1543899.
22. Liu RX, Wang Y, Wen LH. Relationship between cytokine gene polymorphisms and recurrent spontaneous abortion. Int J Clin Exp Med 2015; 8 (6): 9786-92. PMID: 26309657
23. Hantoushzadeh S, Kohandel Gargari O, Shafiee A, et al. Glucose metabolism tests and recurrent pregnancy loss: evidence from a systematic review and meta-analysis. Diabetol Metabol Syndr 2023; 15: 3. https://doi.org/10.1186/s13098-022-00973-z
24. Ticconi C, Nicastri E, D´Ippolito S, et al. Diagnostic factors for recurrent pregnancy loss: an expanded workup. Arch Gynecol Obstet 2023; 308 (1): 127-42. https://doi.org/10.1007/S00404-023-07001-Z

CITACIÓN ACTUAL

De acuerdo con las principales bases de datos y repositorios internacionales, la nueva forma de citación para publicaciones periódicas, digitales (revistas en línea), libros o cualquier tipo de referencia que incluya número doi (por sus siglas en inglés: Digital Object Identifier) será de la siguiente forma:

REFERENCIAS

1. Yang M, Guo ZW, Deng CJ, et al. A comparative study of three different forecasting methods for trial of labor after cesarean section. J Obstet Gynaecol Res. 2017;25(11):239-42. https://doi.org/10.1016/j.gyobfe.2015.04..0015*

* El registro Doi deberá colocarse con el link completo (como se indica en el ejemplo).

https://doi.org/10.24245/gom.v92i7.8334