






Artículo original

Expresión de la enzima 11 β hidroxisteroide deshidrogenasa tipo 2 en placenta a término de la gestante obesa

Camila del Pilar Rodríguez  ¹, Yhoiss Smith-Muñoz ¹, Jenniffer Alejandra Castellanos ²,
María Carolina Pustovrh ¹

¹Departamento de Morfología, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia

²Facultad de Ingeniería, Unidad Central del Valle del Cauca, Tuluá, Colombia

Cómo citar: Rodríguez CP, Smith-Muñoz Y, Castellanos JA, Pustovrh MC. Expresión de la enzima 11 β hidroxisteroide deshidrogenasa tipo 2 en placenta a término de la gestante obesa. Rev Colomb Endocrinol Diabet Metab. 2023;10(3):e813. <https://doi.org/10.53853/encr.10.3.813>

Recibido: 18/Noviembre/2022

Aceptado: 12/Mayo/2023

Publicado: 21/Septiembre/2023

Resumen

Contexto: un ambiente materno obesogénico puede impactar directamente tanto sobre la función placentaria como el desarrollo y crecimiento del feto. La enzima 11 β hidroxisteroide deshidrogenasa tipo 2 (11 β -HSD2), ubicada en sincitiotrofoblasto, inactiva el cortisol transformándolo en cortisona para limitar su paso directo a circulación fetal. Diversas investigaciones proponen que una alta exposición a los glucocorticoides se asocia con una reducción del perímetro cefálico al nacer, aumento de la distracción y falta de atención, entre otras diversas alteraciones.


Objetivo: determinar la expresión proteica de 11 β -HSD2 en muestras de placenta a término clasificadas de acuerdo al IMC.

Metodología: estudio de tipo corte transversal analítico. Para el desarrollo de la investigación se reclutó una población de 300 gestantes que asistieron al trabajo de parto en una IPS de la ciudad de Cali, se eligió para el cumplimiento del objetivo de este estudio una muestra de 15 tejidos placentarios (5 de cada grupo clasificado de acuerdo al IMC), previa firma de consentimiento informado. Las muestras de tejido placentario provenientes de las mujeres gestantes clasificadas de acuerdo al IMC fueron analizadas por inmunohistoquímica para la enzima 11 β -HSD2. La inmunomarcación se evaluó por medio de software Image Pro Plus V 6.0. Los resultados se indican como la media \pm EE. Se consideraron diferencias significativas cuando $p < 0.05$.

Resultados: la enzima 11 β -HSD2 se expresó en el citoplasma del sincitiotrofoblasto que reviste las vellosidades placentarias, con expresión menor en las placentas provenientes de mujeres con obesidad pregestacional en comparación con las de mujeres normopeso ($p < 0.05$). Por tanto, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

Destacados

- El análisis inmunohistoquímico de fragmentos de tejido placentario organizados en microarreglos representa una técnica útil para el análisis de moléculas como la 11 β -HSD2 en diferentes áreas de dicho órgano.
- La obesidad pregestacional es una condición que posiblemente altera el estado de diferentes moléculas a nivel placentario, en este caso, se observó una disminución de la expresión proteica de la 11 β -HSD2 en las gestantes.
- La alteración en la expresión de la enzima 11 β -HSD2 a nivel placentario en mujeres con obesidad pregestacional se puede relacionar con un nivel elevado de cortisol en circulación fetal, lo cual genera en el feto alteraciones en el desarrollo y crecimiento.

 **Correspondencia:** Camila del Pilar Rodríguez, calle 4B # 36-00 Barrio San Fernando, edificio 116, espacio 27, Cali, Colombia. Correo-e: camila.rodriguez@correounivalle.edu.co

Conclusiones: iniciar la gestación en estado de obesidad afecta la expresión proteica de la enzima 11 β -HSD2, lo cual comprometería el control de los niveles de cortisol que alcanza la circulación fetal.

Palabras clave: embarazo, hidroxisteroide deshidrogenasas, inmunohistoquímica, obesidad materna, placenta, vellosidades coriónicas, glucocorticoides.

Expression of the enzyme 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in placenta at term of the obese pregnant woman

Abstract

Context: An obesogenic maternal environment can directly impact both placental function and fetal growth and development. The enzyme 11 β Hydroxysteroid Dehydrogenase type 2 (11 β -HSD2), located in syncytiotrophoblast, inactivates cortisol converting it into cortisone to limit its direct passage to fetal circulation. Several studies propose that high glucocorticoid exposure is associated with reduced head circumference at birth, increased distractibility and inattention, among other alterations.

Objective: To determine the protein expression of 11 β -HSD2 in term placenta samples classified according to BMI.

Methodology: Analytical cross-sectional study. For the development of the research, a population of 300 pregnant women who attended labor at an IPS in the city of Cali was recruited and a sample of 15 placental tissues (5 from each group classified according to BMI) was chosen to fulfill the objective of this study after signing an informed consent form. Placental tissue samples from pregnant women classified according to BMI were analyzed by immunohistochemistry for the 11 β -HSD2 enzyme. Immunolabeling was evaluated by Image Pro Plus V 6.0 software. Results are shown as mean \pm SE. Significant differences were considered when $p < 0.05$

Results: The 11 β -HSD2 enzyme was expressed in the cytoplasm of the syncytiotrophoblast lining the chorionic villi; its expression was lower in placentas from women with pregestational obesity compared to placentas from normopese women ($p < 0.05$). Therefore, statistically significant differences were found between the two groups.

Conclusion: Starting gestation in a state of obesity affects the protein expression of the enzyme 11 β -HSD2, which would compromise the control of cortisol levels reaching the fetal circulation.

Key words: Pregnancy, Hydroxysteroid dehydrogenases, Immunohistochemistry, Maternal obesity, Placenta, Chorionic Villi, Glucocorticoids

Highlights

- The immunohistochemical analysis of fragments of placental tissue organized in microarrays represents a useful technique for the analysis of molecules such as 11 β -HSD2 in different areas of this organ.
- Pregestational obesity is a condition that possibly alters the status of different molecules at the placental level; in this case, a decrease in the protein expression of 11 β -HSD2 was observed in pregnant women.
- The alteration in the expression of the enzyme 11 β -HSD2 at the placental level in women with pregestational obesity may be related to an elevated level of cortisol in fetal circulation. This may generate alterations in fetal development and growth.

Introducción

Durante la gestación, es importante que la madre se habitúe a una dieta balanceada para lograr un embarazo saludable que garantice

una adecuada formación y desarrollo fetal (1). En los últimos 20 años, ha habido un aumento rápido y preocupante en la prevalencia de obesidad materna en todo el mundo. En los Estados Unidos y en Europa, se ha observado

un comportamiento similar, con un porcentaje significativo de mujeres en edad reproductiva que tienen sobrepeso (64 %) u obesidad (35 %)(2). Estos datos sugieren que la obesidad materna es un problema de salud pública importante que afecta a muchas poblaciones en todo el mundo. En Colombia, de acuerdo con la información obtenida en la Encuesta Nacional de la Situación Nutricional (ENSIN, 2010), se ha observado una tasa preocupante del 34,6 % de gestantes con exceso de peso para la edad gestacional, de las cuales el 24,8 % tenían sobrepeso y el 9,8 % obesidad (3), lo que sugiere que la obesidad materna también es un problema grave en este país. En una investigación llevada a cabo en la ciudad de Cali, se estudió la relación entre la mortalidad fetal temprana y el estado nutricional de la madre. Los resultados mostraron que hubo una alta proporción de mujeres embarazadas con obesidad (IMC \geq 30 kg/m²), correspondiendo al 13,1% de los casos estudiados (4).

En el embarazo, el estado de obesidad aumenta el riesgo de ocurrencia de trabajo de parto pretérmino, cesárea primaria, morbilidad perioperatoria, hipertensión, preeclampsia, diabetes gestacional, infección puerperal; sin embargo, el impacto puede extenderse más allá de la etapa neonatal y generar complicaciones a largo plazo en el individuo adulto con obesidad, diabetes, hipertensión, síndrome metabólico, etc. (5-8). Por otra parte, la placenta, encargada del intercambio de nutrientes y desechos entre la madre y el feto, es indispensable para un desarrollo adecuado del embarazo (9). Su función también es modular la exposición del feto a los glucocorticoides, protegiéndolo por medio de una barrera a nivel del sincitiotrofoblasto donde se encuentra la enzima 11 β -HSD2 que metaboliza el cortisol (80% - 90 %) inactivándolo a cortisona (10-12).

Evaluar la expresión de la enzima 11 β -HSD2 por medio de inmunohistoquímica en tejidos placentarios provenientes de gestantes normopeso y con obesidad permitirá aumentar el grado de comprensión acerca de la influencia

que dicha condición tiene sobre la regulación molecular de la barrera feto-placentaria.

Métodos

Tejido placentario

En este estudio preliminar de tipo corte transversal analítico, se incluyó el análisis de la placenta a término proveniente de mujeres, que dieron su firma en el consentimiento informado, entre los 18 y 37 años de edad, con embarazo único, sin preeclampsia, diabetes gestacional, alteraciones de las hormonas tiroideas o inmunológicas y sin administración de glucocorticoides por amenaza de parto pretérmino. Las gestantes fueron clasificadas de acuerdo con su IMC calculado al inicio y al final de la gestación con el fin de ubicar a las gestantes dentro de cada grupo y siguiendo los criterios expuestos en las Guías de Práctica Clínica en Colombia y la OMS (13). Las participantes fueron divididas en tres grupos, de los cuales se obtuvieron 15 placentas: cinco gestantes normopeso (GN: 18,5 kg/m² - 24,9 kg/m²), cinco gestantes con obesidad pregestacional (GOP: inicio de embarazo con IMC > 30 kg/m²) y cinco gestantes con obesidad gestacional (GOG: ganancia de peso durante el embarazo superior a 13 kg). A partir de la población equivalente a 300 gestantes, se calculó un tamaño muestral de 60 mujeres en el proyecto marco "Hormonas tiroideas en la gestante obesa y su uso como biomarcadores de salud materno fetal" y para dar cumplimiento al objetivo de la investigación, se eligió un conjunto de 15 tejidos placentarios. El presente estudio contó con el aval del Comité Institucional de Revisión de Ética Humana de la Universidad del Valle, aval código interno E028-021.

Cada placenta fue dividida en cuatro cuadrantes, a partir de los cuales se obtuvieron muestras del lado fetal (vellosidades coriónicas), que fueron fijadas en paraformaldehído, incluidas en parafina y organizadas en microarrays. Luego de cada microarray, se realizaron tres cortes seriados de 4 μ m de grosor (figura 1).

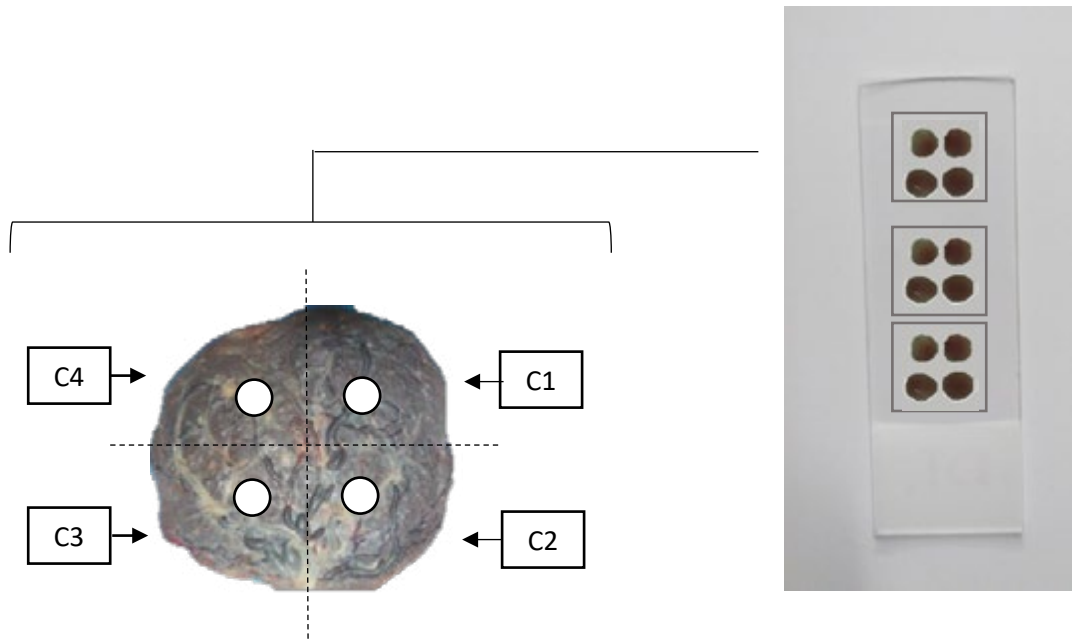


Figura 1. Placenta humana a término dividida en cuatro cuadrantes para proceso de inmunohistoquímica

Fuente: elaboración propia.

Proceso de inmunohistoquímica

En el proceso de inmunohistoquímica, 15 portaobjetos con microarrays de tejido placentario se sometieron a una recuperación antigénica con tampón Tris-EDTA pH 9,0 (0,01M) en calor húmedo durante 20 minutos. Posteriormente las muestras fueron incubadas con 1,0 μ g/mL de anticuerpo policlonal contra la enzima 11 β -HSD2 humana (rabbit-Invitrogen-PA5-79399), diluido en PBS, a 4 °C durante toda la noche. Para realizar el control negativo, las muestras se incubaron en PBS con omisión de anticuerpo primario. Finalizada la incubación, se realizaron dos lavados por 3 min con PBS-T y dos lavados adicionales con PBS por 3 min. Luego se incubó con anticuerpo secundario por 10 min siguiendo las instrucciones del kit UltraVision Quanto Detection System HRP (Thermo). Para el revelado de la inmunomarcación se utilizó el cromógeno 3' 3' Diaminobenzidina (DAB, Abcam) por 30 segundos. La contratincción se realizó aplicando hematoxilina de Harris (14).

Para el análisis de la inmunohistoquímica, se empleó el microscopio Leica DM750 con cámara acoplada Leica ICC50 W. Doce microfotografías

por muestra fueron tomadas a 10X. Las 180 imágenes obtenidas se analizaron utilizando el *software* Image Pro Plus V 6.0. La intensidad de inmunomarcación fue reportada como el promedio de DOI (densidad óptica integrada), medido en unidades arbitrarias (UA).

Análisis estadístico

En esta investigación se planteó como hipótesis nula (H_0) que la expresión de la enzima 11 β -HSD2 no se encuentra alterada en la placenta de gestantes a término agrupadas por IMC. El análisis estadístico fue realizado con el programa SPSS V27 Premium (IBM, Nueva York, EE. UU.) y se utilizó un valor de $p \leq 0,05$ como límite de significación estadística. Se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk en la evaluación de la distribución de los datos, por medio de la cual se aceptó que estos presentan una distribución normal ($p > 0,1$) y análisis de varianza (ANOVA) para el análisis de la enzima 11 β -HSD2 entre los tres grupos de gestantes. Los resultados se presentan como la media \pm el error estándar (EE). (15).

Resultados

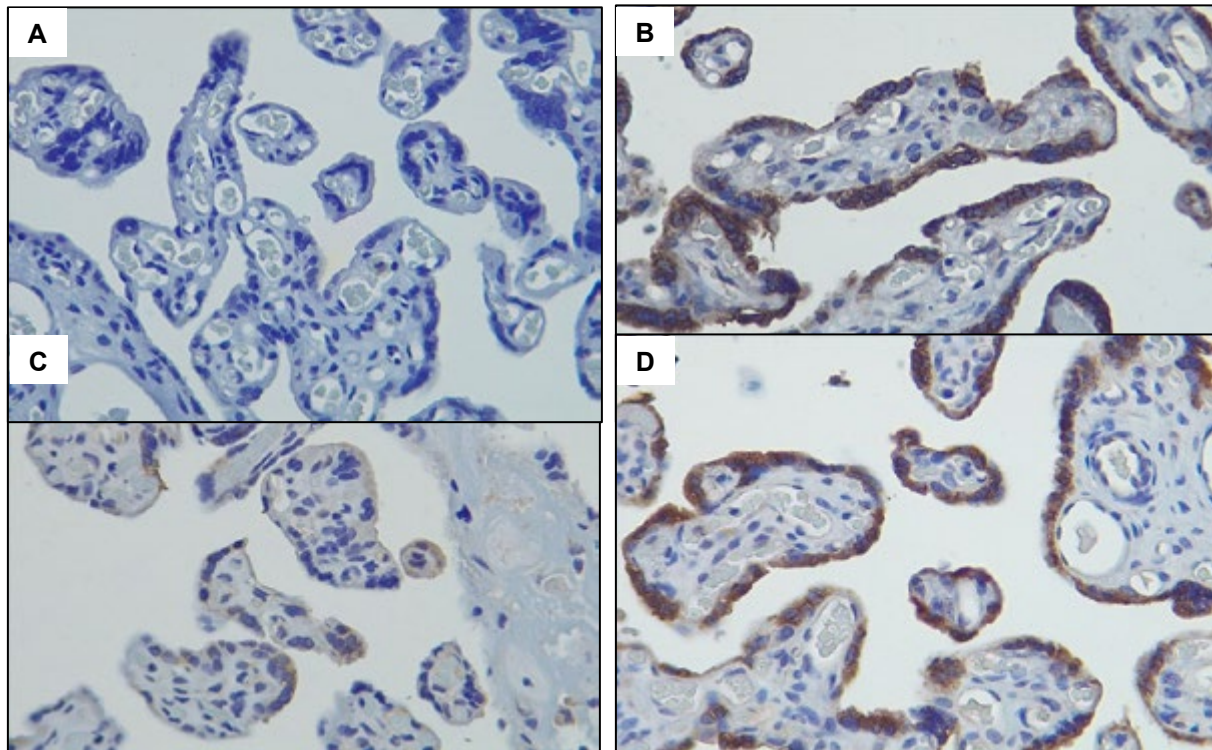


Figura 2. Inmunomarcación de la enzima 11 β -HSD2 en placenta a término

Nota. A) Control negativo por omisión de anticuerpo primario; B) Tejido placentario de gestante normopeso; C) Tejido placentario de gestante con obesidad pregestacional; D) Tejido placentario de gestante con obesidad gestacional (D). Aumento: 10X

Fuente: elaboración propia.

En las microfotografías obtenidas durante el estudio (figura 2), la expresión de la enzima 11 β -HSD2 se evidenció en el citoplasma del sincitiotrofoblasto que reviste las vellosidades placentarias, lo cual se denota en color café; la inmunomarcación fue mayor en las microfotografías B (tejido placentario de gestante normopeso) y D (tejido placentario de gestante con obesidad gestacional).

Según el análisis estadístico de la DOI (figura 3), al comparar los valores de unidades arbitrarias entre los tres grupos, en las gestantes con obesidad pregestacional se presentó el menor valor ($5,20 \pm 0,45$ UA), lo cual indica una menor expresión de la enzima 11 β -HSD2.

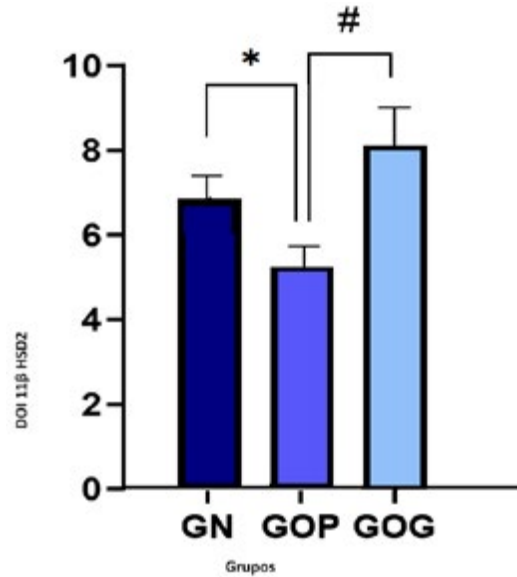


Figura 3. Análisis comparativo de la media de DOI de la enzima 11 β -HSD2 en la placenta a término

Nota: GN: Gestante normopeso; GOP: Gestante con obesidad pregestacional; GOG: Gestante con obesidad gestacional. La DOI se expresa en unidades arbitrarias (UA)

* $p < 0,05$ y # $p < 0,02$.

Fuente: elaboración propia.

Discusión

La expresión proteica de la enzima 11 β -HSD2 analizada en las placentas de mujeres con diferentes grados de obesidad permite entender la relación de esta patología con un incremento en las condiciones desfavorables para el crecimiento y desarrollo del feto.

Los resultados de este estudio sugieren que iniciar el embarazo en estado de obesidad se asocia con una disminución en la expresión de la enzima a nivel placentario, específicamente en la zona del sincitiotrofoblasto donde se lleva a cabo el intercambio materno-fetal. Lo anterior representaría para los fetos una mayor exposición a niveles elevados de cortisol. Este incremento en el cortisol se convierte en un riesgo directo para el sistema nervioso embrio-fetal, dado que puede producir cambios en el sistema de neurotransmisores, la función de las células gliales y el desarrollo neuronal. También se presentan afectaciones en la curva de desarrollo y crecimiento fetal (16-19). Adicionalmente, dicho

exceso está asociado con mayor presión arterial en niños de 3 años, cambios en la composición corporal a los 5 años de edad y déficit de atención (11). Por otra parte, se evidenció que cuando la obesidad se presenta durante el periodo gestacional, existe un incremento, aunque no significativo, de la 11 β -HSD2 en comparación con gestantes normopeso, que puede indicar una posible respuesta adaptativa protectora. De acuerdo con la literatura, el ambiente metabólico materno puede afectar en la placenta su crecimiento temprano, la expresión de diversos genes y las funciones de esta (20).

Lazo de la Vega y colaboradores analizaron la expresión de la enzima 11 β -HSD2 placentaria en gestantes sanas cuyos recién nacidos se clasificaron como nacidos pequeños para la edad gestacional (PEG) o adecuados para edad gestacional (AGA). Estos autores mostraron una reducción en la expresión enzimática y mayor metilación del promotor de la 11 β -HSD2 en las placentas de los recién nacidos PEG en comparación con las placentas de los recién

nacidos AGA; dichos hallazgos indican la presencia de posibles mecanismos epigenéticos regulatorios de la enzima 11 β -HSD2, los cuales representan un riesgo para el desarrollo de enfermedades metabólicas postnatales. Además, se muestra un impacto directo de la reducción de la enzima sobre el peso fetal como consecuencia del exceso de glucocorticoides en el útero (21).

Mina y colaboradores (22) evaluaron los niveles de RNAm de la 11 β -HSD2 en muestras placentarias obtenidas del lado materno de gestantes clasificadas como delgadas y con obesidad severa, sin observar diferencias en la expresión de la enzima. Si bien estos resultados difieren de los presentados en el actual estudio, cabe resaltar que los orígenes de la decidua (cara materna placentaria) y la región coriónica (cara fetal placentaria) pueden ser claramente disímiles en la expresión de esta enzima. Es mucho más sensible el componente placentario fetal a las variaciones de los niveles de glucocorticoides intrauterinos.

En cuanto a las limitaciones de este estudio, se reconoce la falta de datos relacionados con la expresión del gen que codifica para la enzima 11 β -HSD2 placentaria, pero se destaca como fortaleza la distribución de los diferentes grupos de gestantes según el IMC y las recomendaciones de las guías de práctica clínica, así como la organización de los tejidos en microarrays que representa la placenta en su totalidad.

Conclusiones

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, se puede concluir que la obesidad previa al estado de gestación tiene un efecto significativo en la expresión de la enzima 11 β -HSD2, dado que esta fue menor en las placentas provenientes de mujeres con obesidad pregestacional ($5,20 \pm 0,45$ UA) en comparación con las placentas de mujeres normopeso ($6,80 \pm 0,57$ UA; $p < 0,05$) y obesas gestacionales ($8,10 \pm 0,57$ UA; $p < 0,02$), lo anterior es contrario a lo planteado en la hipótesis nula. Esto, a su vez, puede generar niveles excesivos de cortisol en el feto durante el embarazo, lo cual se traduciría en alteraciones en su desarrollo que logran manifestarse inclusive en la adultez (22). Es importante tener en cuenta

que estos efectos pueden ser sutiles y difíciles de detectar en el corto plazo, por lo que se requieren estudios más amplios y longitudinales para comprender las consecuencias a largo plazo de la obesidad materna en la salud del feto y recién nacido.

Contribuciones de los autores

Camila del Pilar Rodríguez: conceptualización, investigación, metodología, escritura (borrador original), revisión, edición del manuscrito final y correcciones del arbitraje; Yhoiss Smith-Muñoz: investigación, validación, metodología y escritura (borrador original); Jenniffer Alejandra Castellanos: adquisición de financiación, investigación, metodología, escritura (borrador original), revisión y edición del manuscrito final; María Carolina Pustovrh: administración de proyecto, conceptualización, metodología, investigación, metodología y escritura (borrador original), revisión y edición del manuscrito final.

Declaración de fuentes de financiación

Esta investigación fue financiada por la Convocatoria 777-2017 Proyectos de Ciencia, Tecnología e Innovación en Salud, Hormonas tiroideas en la gestante obesa y su uso como biomarcadores de salud materno fetal (CI1830), Colciencias; y por la Convocatoria 811 para estancias postdoctorales de Colciencias, el Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación Francisco José de Caldas y la Universidad del Valle, mediante contrato N.º 80740-389-2019.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés en el presente artículo.

Implicaciones éticas

El presente estudio contó con el aval del Comité Institucional de Revisión de Ética Humana de la Universidad del Valle, aval código interno E028-021.

Agradecimientos

Queremos agradecer el apoyo económico otorgado por parte de la dirección de postgrados en Ciencias Biomédicas, y hacer posible la participación en el IX Curso Internacional de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo – ENDIMET. También al proyecto marco “Hormonas tiroideas en la gestante obesa y su uso como biomarcadores de salud materno fetal”, por proporcionar las muestras de tejido placentario para su respectivo análisis.

Referencias

- [1] Maldonado JM. Salud mental perinatal. Washington, D. C.: OPS; 2011. https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51594/9789275332498_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- [2] Reynolds RM, Allan KM, Raja EA, Bhattacharya S, McNeill G, Hannaford PC, et al. Maternal obesity during pregnancy and premature mortality from cardiovascular event in adult offspring: follow-up of 1 323 275 person years. *BMJ*. 2013 Aug 13;347:f4593. <https://doi.org/10.1136/bmj.f4539>
- [3] Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia (ENSIN). Resumen ejecutivo. 2010. https://www.javeriana.edu.co/documents/245769/3025871/Resumen_Ejecutivo_ENSIN_2010.pdf/160e9856-006d-4a60-9da3-d71606703609
- [4] Hermann Triviño SP, Pinzón Buitrago FA, Salazar Monsalve L, Mayor Barrera A. Mortalidad fetal temprana en una institución de nivel III en Cali, Colombia. Estudio exploratorio. *Rev Colomb Salud Libr*. 2016;11(1). <https://doi.org/10.18041/1900-7841/rcslibre.2016v11n1.1621>
- [5] Racusin D, Stevens B, Campbell G, Aagaard KM. Obesity and the risk and detection of fetal malformations. *Semin Perinatol*. 2012 Jun;36(3):213–21. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2012.05.001>
- [6] Schummers L, Hutcheon JA, Bodnar LM, Lieberman E, Himes KP. Risk of adverse pregnancy outcomes by prepregnancy body mass index. *Obstet Gynecol*. 2015;125(1):133–43. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000000591>
- [7] Boney CM, Verma A, Tucker R, Vohr BR. Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. *Pediatrics*. 2005;115(3):e290–6. <https://doi.org/10.1542/peds.2004-1808>
- [8] Musa MG, Torrens C, Clough GF. The microvasculature: a target for nutritional programming and later risk of cardio-metabolic disease. *Acta Physiol*. 2014;210(1):31–45 <https://doi.org/10.1111/apha.12131>
- [9] San Román Diego MA, Noriega Borge MJ. Weight gain in pregnancy. Physiological changes due to weight gain and nutritional needs. Universidad de Cantabria; 2013. <https://repositorio.unican.es/xmlui/bitstream/handle/10902/3948/SanRomanDiegoMA.pdf?sequence=1>
- [10] Chapman K, Holmes M, Seckl J. 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases: intracellular gate-keepers of tissue glucocorticoid action. *Physiol Rev*. 2013;93(3):1139–206. <https://doi.org/10.1152/physrev.00020.2012>
- [11] Duthie L, Reynolds RM. Changes in the maternal hypothalamic-pituitary-adrenal axis in pregnancy and postpartum: Influences on maternal and fetal outcomes. *Neuroendocrinology*. 2013;98(2):106–15. <https://doi.org/10.1159/000354702>
- [12] Salvante KG, Milano K, Kliman HJ, Nepomnaschy PA. Placental 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (11 β -HSD2) expression very early during human pregnancy. *J Dev Orig Health Dis*. 2017;8(2):149–54. <https://doi.org/10.1017/S2040174416000611>
- [13] Ministerio de salud y protección social, CINETS. Guías de Práctica Clínica para la prevención, detección temprana y

- tratamiento de las complicaciones del embarazo, parto o puerperio [Internet]. 2013. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/INEC/IETS/Guía.completa.Embarazo.Parto.2013.pdf>
- [14] Megías M, Molist P, Pombal M. Atlas de histología vegetal y animal. <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/protocolos/s-colorante-hem-harris.php>
- [15] Lee DK, In J, Lee S. Standard deviation and standard error of the mean. *Korean J Anesthesiol.* 2015;68(3):220–223. <https://doi.org/10.4097/kjae.2015.68.3.220>
- [16] Marino A. Disfunción placentaria asociada a la restricción del crecimiento fetal inducido por glucocorticoides. Estudio de las alteraciones en la proliferación y muerte celular del tejido placentario. Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires; 2020. <https://repositorio.unnoba.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/23601/369/TFGANaclaraMarinoLicenciaturaenGenética.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- [17] Brachetti E, Ruperti E, Irigoyen S, Brito F. Efectos del estrés materno intenso y prolongado durante el embarazo y su repercusión sobre el neurodesarrollo del feto. *Rev Ecuat Neurol.* 2020;29(2):23–8. <https://doi.org/10.46997/revecuatneurol29200023>
- [18] Ochoa K. Niveles neurohormonales en la unidad feto placentaria, según tipo de parto en embarazos de bajo riesgo. [tesis de maestría] [Chile]: Universidad de Concepción; 2022. <http://repositorio.udec.cl/jspui/bitstream/11594/9956/1/Karen%20Ochoa%20Tesis.Image.Marked.pdf>
- [19] Francesca MF. El estrés gestacional y sus consecuencias. Universidad de Salamanca; 2017.
- [20] Miguel-Soca PE, Feria Díaz GE, González Benítez SN, Leyva Montero MA. Obesidad, inflamación y embarazo, una tríada peligrosa. *Rev Cuba Obstet y Ginecol.* 2020;46(4):1–26. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubobsgin/cog-2020/cog204i.pdf>
- [21] Lazo de la Vega ML, Solís Martínez MO, Romero Gutiérrez G, Aguirre Arzola VE, Wrobel K, Wrobel K, et al. 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2 promoter methylation is associated with placental protein expression in small for gestational age newborns. *Steroids.* 2017 Aug;124:60–66. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2017.05.007>
- [22] Mina TH, Räikkönen K, Riley SC, Norman JE, Reynolds RM. Maternal distress associates with placental genes regulating fetal glucocorticoid exposure and IGF2: Role of obesity and sex. *Psychoneuroendocrinology* [Internet]. 2015;59:112–22. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.05.004>
- [23] Cáceres R, Martínez JC, Arancibia M, Sepúlveda E. Efectos neurobiológicos del estrés prenatal sobre el nuevo ser. *Rev chil neuro-psiquiatr.* 2017;55(2):103–13. <https://doi.org/10.4067/S0717-92272017000200005>