

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA
SALUD

DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA
BIOLÓGICA

INFORME DE SERVICIO SOCIAL POR
ACTIVIDADES VINCULADAS CON LA PROFESIÓN

**Apoyo en las actividades de análisis de la expresión génica de
metaloproteinasas de matriz extracelular en corioamnios de
pacientes con ruptura prematura de membranas**

QUE PRESENTA LA ALUMNA
Pérez Vega Salma Paola.

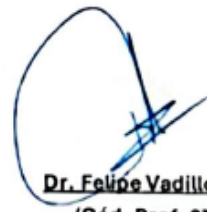
CON MATRÍCULA
2223060948

ASESORES.

Dra. María Elisa Drago Serrano (No. Económico 17243)
Dr. Felipe Vadillo Ortega (Céd. Prof. 1481026)



Dra. María Elisa Drago Serrano.
(No. Económico 17243)



Dr. Felipe Vadillo Ortega.
(Céd. Prof. 873992)

Ciudad de México

Mayo, 2026

Índice.

1.	Introducción.....	3
2.	Lugar de realización.	5
3.	Marco institucional.	6
	Misión.....	6
	Visión.....	6
4.	Objetivo general.	7
	Objetivos específicos.	7
5.	Actividades relacionadas con el desarrollo del proyecto.	8
	5.1. Análisis de expresión génica.	8
	5.2. Análisis estadístico.....	8
	5.3. Análisis de actividad enzimática.....	8
6.	Resultados y discusión.	10
	6.1. Expresión génica.	10
	6.2. Actividad enzimática.....	11
7.	Aporte a la sociedad.....	13
8.	Conclusión.....	13
9.	Referencias.....	14
10.	Visto bueno.	16

1. Introducción.

La ruptura de la membrana fetal se define como la pérdida de la continuidad del corioamnios y se manifiesta con la salida transvaginal del líquido amniótico (Vadillo & Estrada, 2005), es un fenómeno que ocurre de manera sincrónica con las contracciones uterinas y la maduración cervical durante el trabajo de parto (Flores *et al* 2015). Cuando sucede la ruptura espontánea de la membrana fetal antes del inicio del parto se denomina ruptura prematura de membrana (RPM), es una condición patológica del embarazo y la principal causa del nacimiento prematuro produciendo morbilidad y mortalidad al producto, así como consecuencias significativas en la madre, lo que convierte a esta complicación obstétrica en un problema de salud pública (Jiang *et al*, 2025). La RPM puede suceder durante cualquier periodo gestacional, cuando sucede antes de las 37 semanas de gestación se denomina ruptura prematura de membrana pretérmino (RPMP) y si sucede antes de las 26 semanas de gestación se conoce como ruptura prematura de membrana previable (Menon & Richardson, 2017). La RPM se produce en aproximadamente el 3-4% de todos los embarazos a nivel mundial y de 8%-10% a nivel nacional y contribuye entre el 40 y el 50% de todos los partos prematuros (Garg, 2023). La RPM es una condición multifactorial, los principales factores de riesgo de esta patología incluyen infecciones en el tracto reproductivo materno, factores conductuales y complicaciones obstétricas (Menon & Richardson, 2017).

La membrana fetal o corioamnios es el tejido extraembrionario que recubre al feto y le brinda protección mecánica e inmunológica. Esta membrana se forma por la fusión de la membrana amniótica (amnios) y la membrana coriónica (corion) unidas por una matriz extracelular (MEC). El amnios es la membrana que mantiene contacto directo con el líquido amniótico y es la más fuerte debido a que la mayor fuerza tensil reside en su capa compacta que se caracteriza por la presencia de abundantes fibras de colágena y ausencia de células (Vadillo & Estrada, 2005). El corion es la capa que mantiene contacto con la decidua materna y es donde se produce una variedad de moléculas inmunomoduladoras (Kendal *et al*, 2025).

Durante el desarrollo del embarazo la membrana fetal se mantiene en constante remodelación por el crecimiento del feto. La remodelación de este tejido está mediada por metaloproteinasas de matriz extracelular (MMPs) e inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMPs). Las MMPs son una familia de endopeptidasas dependientes de iones de Zn^{2+} y cofactores metálicos de Ca^{2+} (Flores *et al*, 2015) se han reportado 23 MMPs en genoma humano y más de 23 en vertebrados, clasificadas de acuerdo con los sustratos que catalizan, dentro de esta clasificación se encuentran las gelatinasas (MMP-2 y MMP-9) capaces de degradar, principalmente, colágena tipo

I y III (Vadillo & Estrada, 2005). Se ha relacionado un aumento en los niveles de MMP-9 en la membrana fetal con el trabajo de parto, sin embargo, MMP-2 aún no tiene evidencia suficiente en cuanto a su expresión y actividad enzimática.

2. Lugar de realización.

El trabajo se realizará en el Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN), ubicado en Periférico sur 4809, Arenal Tepepan, alcaldía Tlalpan, 14610 Ciudad de México, con coordenadas 19°17'11"N 99°09'02"O/19.28631, -99.15051 (Fig. 1) dentro del periodo correspondiente del 28 de julio del 2025 al 28 de abril del 2026.



Figura 1. Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN).

3. Marco institucional.

El Instituto Nacional de Medicina Genómica es un proyecto que se dedica a impulsar una plataforma en Medicina Genómica en el país, mediante el desarrollo permanente de la investigación científica, la formación de recursos humanos y la vinculación académica con otras instituciones similares a nivel nacional e internacional, con el propósito de contribuir al fortalecimiento del Sistema Nacional de Salud y al mejoramiento en el cuidado de la salud de los mexicanos.

Misión.

Contribuir a la equidad en salud de la población mexicana mediante investigación genómica innovadora, formación de talento humano y colaboración multisectorial, garantizando el acceso inclusivo a tecnologías genómicas avanzadas y de precisión para mejorar la calidad de vida. Esto mediante innovación responsable y sostenible en medicina genómica, guiada por principios éticos universales que prioricen el bienestar humano.

Visión.

Posicionar a México como uno de los líderes globales en medicina genómica y de precisión al desarrollar soluciones innovadoras que transformen la salud pública y promuevan una cultura de prevención basada en evidencia científica, apoyados por tecnologías de punta para desarrollar soluciones personalizadas para la salud, siempre con un enfoque de justicia distributiva.

4. Objetivo general.

Analizar la expresión génica y la actividad enzimática de MMP-2 y MMP-9 en membranas corioamnióticas bajo condiciones de RPM, ruptura fisiológica y sin trabajo de parto, correlacionando los niveles de ARNm (RT-qPCR) con la actividad proteolítica *in vitro* (zimografía).

Objetivos específicos.

- Cuantificar la expresión de ARNm de MMP-2 y MMP-9 mediante RT-qPCR.
- Verificar la actividad enzimática de MMP-2 y MMP-9 a través de zimografía para validar el comportamiento proteolítico en las muestras del estudio.
- Analizar mediante lenguaje R las diferencias significativas en la expresión génica entre los grupos de estudio (RPM, ruptura fisiológica y sin labor de parto).
- Contrastar los hallazgos de expresión génica con los antecedentes de actividad catalítica, con el fin de determinar si los niveles de ARNm explican la variabilidad funcional reportada en la literatura.

5. Actividades relacionadas con el desarrollo del proyecto.

Se utilizaron muestras de membrana fetal de embarazos a término con ruptura fisiológica, RPM y con indicación de cesárea obtenidos del Instituto Nacional de Perinatología.

5.1. Análisis de expresión génica.

Para el análisis de los resultados de la RT-qPCR antes realizada se utilizó el método de $2^{-\Delta\Delta Ct}$ con el fin de calcular la expresión relativa de los genes de MMP-2, MMP-9, TIMP-1 y TIMP-2. Se normalizó el gen de interés contra el promedio de dos genes constitutivos o housekeeping (HPRT1 y RPLP0) para obtener el ΔCt (Ct interés- Ct housekeeping), posteriormente se realizó la comparación entre grupos calculando el $\Delta\Delta Ct$ (ΔCt grupo de interés - ΔCt grupo control) y, finalmente, para determinar el cambio de expresión relativa se determinó el fold regulation a partir del fold change ($2^{-\Delta\Delta Ct}$). Se utilizó como control de la expresión génica la cesárea con el fin de comparar con RF y RPM. También se utilizó RF como control para comparar la patología de RPM.

5.2. Análisis estadístico.

Para realizar la comparación del cambio de expresión entre el grupo control y el grupo de interés se realizaron pruebas estadísticas en R, primero se determinó la normalidad de los datos con una prueba de Shapiro-Wilk, con base en los resultados de esto se determinó si la prueba estadística de comparación sería paramétrica (t de student) o no paramétrica (U de Mann-Whitney).

5.3. Análisis de actividad enzimática

Para la evaluación de la actividad enzimática primero se realizó un homogeneizado de membrana corioamniótica con una relación 1:5 en un buffer de Tris pH 7.4, que contenía NaCl, Tritón X-100 y EDTA esto con el fin de extraer las proteínas contenidas en la membrana, se almacenaron a -70°C hasta su uso. La concentración de proteína de los homogeneizados se cuantificó de acuerdo con el método de Bradford (Bradford, 1976).

Se realizó un gel de zimografía de las muestras (n=2 de cada grupo analizado). Se corrieron electroforesis en geles de poliacrilamida al 10% utilizando gelatina como sustrato, se incorporaron 5 μg de proteína por carril y se corrieron a 10 mA constantes durante 2 horas. Los geles se lavaron con Tritón X-100 durante 30 minutos para eliminar el SDS y se incubaron durante 16 horas a 40°C en solución de Tris pH 7.4, CaCl_2 0.1M y NaCl 0.15M. Al finalizar la incubación los geles se tiñeron con azul de coomassie G-250. En cada corrida se incluyó un carril con marcador de peso molecular preteñido y un control positivo para identificar las MMPs de interés. Se

determinó el peso molecular de las bandas utilizando como referencia el marcador de peso molecular agregado en uno de los pozos, se midió el recorrido de cada banda del marcador de peso molecular y se realizó una recta de la distancia (cm) vs LogPM, con base en esta ecuación se determinó el peso molecular de las bandas medidas de cada muestra.

6. Resultados y discusión.

6.1. Expresión génica.

Se observó que los valores analizados de Ct de los tres grupos tienden a la normalidad, es decir, no existen diferencias significativas en la media de las muestras de cada grupo (tabla 1), lo que indica que la comparación entre grupos de la expresión génica relativa se debe evaluar con la prueba paramétrica de t de student.

Tabla 1. Resultados de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de los Ct obtenidos a partir de la RT-qPCR de RPM (n=8), Cesárea (n=10) y RF (n=9). El valor de $p > 0.05$ indica que los datos siguen una distribución normal, mientras que el valor de w indica el nivel de tendencia a la normalidad, es decir, un valor de w cercano a la unidad, indica mayor normalidad de los datos.

Gene	RPM		Cesárea		RF	
	W valor	P valor	W valor	P valor	W valor	P valor
MMP-2	0.87161	0.1563	0.90924	0.2758	0.96574	0.8561
MMP-9	0.96506	0.8567	0.94641	0.6263	0.94936	0.6831
TIMP-1	0.95808	0.7916	0.97023	0.893	0.88244	0.1665
TIMP-2	0.92097	0.4378	0.89017	0.1703	0.83942	0.0569

En los resultados de la expresión génica relativa utilizando cesárea como control se observa que en RF hay un aumento en la expresión de MMP-9, así como del TIMP que lo inhibe (TIMP-1), habiendo mayor expresión en este último. En estudios anteriores, la expresión de MMP-9 es mayor que de TIMP-1 debido a las citocinas que se producen durante el trabajo de parto, entre estas, las que promueven la expresión de MMP-9 son principalmente IL-1 β , TNF- α e IL-6 (Vadillo & Estrada, 2005). Por otro lado, la expresión del TIMP-1 se ve mediado principalmente por IL-1 β en gestaciones a término (Amabebe *et al*, 2024), sin embargo, TNF- α se ha asociado con una disminución en la

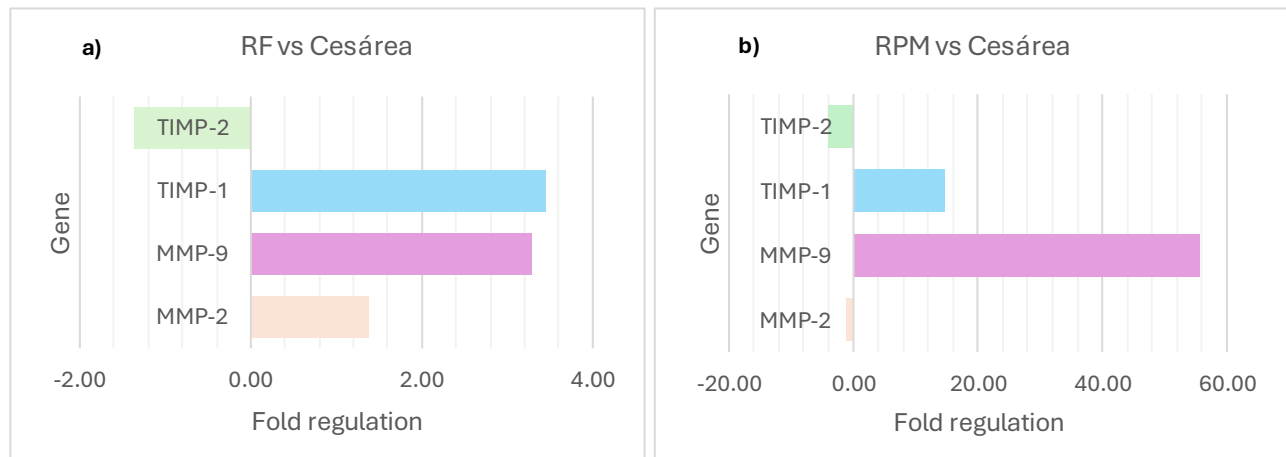


Figura 2. a) Expresión génica relativa de MMP-2, MMP-9, TIMP-1 y TIMP-2 en RF respecto a cesárea como control. MMP-9 (FR= 3.29, $p < 0.0001$) y TIMP-1 (FR= 3.45, $p = 0.003$) mostraron sobreexpresión en RF respecto a cesárea. MMP-2 (FR= 1.38, $p = 0.097$) y TIMP-2 (FR= -1.37, $p = 0.455$) no mostraron diferencias estadísticamente significativas. **b)** Expresión génica relativa de MMP-2, MMP-9, TIMP-1 y TIMP-2 en RPM respecto a cesárea como control. MMP-9 ($p < 0.0001$) y TIMP-1 ($p = 0.017$) mostraron sobreexpresión en RPM respecto a cesárea. TIMP-2 presentó subexpresión significativa respecto al control ($p < 0.001$). MMP-2 no mostró diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ($p = 0.147$).

expresión de esta proteína (Lobardi *et al*, 2018). Por lo anterior, los resultados obtenidos de la expresión de TIMP-1 en RF respecto a Cesárea no concuerdan con los reportados en la bibliografía, sin embargo, esto se puede deber a la cantidad de ARNm que no se traduce y se degrada, es decir, no toda la proteína que se transcribe logra traducirse, por lo que la relación expresión-proteína no es equivalente (figura 2).

En RPM se observa un aumento en la expresión de MMP-9 respecto a Cesárea y RF, datos similares han sido reportados en estudios anteriores, esto debido al ambiente proinflamatorio de la zona, sobre todo cuando la causa de la patología es infección, siendo esta la principal causa de RPM (Menon & Richardson, 2017), se ha reportado que moléculas, como los lipopolisacáridos (LPS), producidos por bacterias disminuyen la expresión de TIMP-1 (Vincent *et al*, 2015) favoreciendo la actividad de MMP-9 y, por lo tanto, la degradación de la MEC. Por otro MMP-2 y TIMP-2 se encuentran ligeramente subexpresadas en RPM respecto a RF y Cesárea debido a que ambas proteínas se expresan de manera constante durante la gestación para la remodelación de la MEC y no aumentan su expresión al finalizar este periodo (Xu *et al*, 2002) (figura 3).

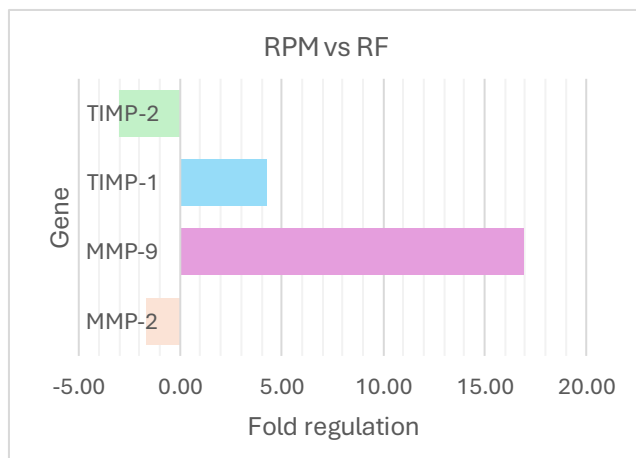


Figura 3. Expresión génica relativa de MMP-2, MMP-9, TIMP-1 y TIMP-2 en RPM respecto a RF como control. MMP-9 (FR= 16.92, $p < 0.0001$) y TIMP-1 (FR= 4.25, $p = 0.0167$) muestran sobreexpresión en RPM respecto a RF. TIMP-2 presentó subexpresión significativa respecto al control (FR= -3.02, $p = 0.00053$). MMP-2 no mostró diferencia estadísticamente significativa entre los grupos (FR= -1.67, $p = 0.147$).

6.2. Actividad enzimática.

Para la evaluación de la actividad enzimática se comparó RPM respecto a RF y Cesárea (N=2). Se utilizaron los extractos de proteína obtenidos a partir de la membrana cotioamniótica y almacenados a -70°C . En la cuantificación de proteína de los extractos se encontraron concentraciones muy deferentes en cada muestra (tabla 2) observando una mayor cantidad de proteína en las muestras de RF.

Tabla 2. Concentraciones determinadas por método de Bradford. STP: C1 y C3; RF: B4 y B9; RPM: B6 y C2

Abs. 595						
Dil. 1:100	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Promedio	Conc. 1:100	Conc (mg/mL)
C1	0.212	0.214	0.195	0.21	0.13	13.35
C3	0.177	0.134	0.131	0.15	0.09	9.35
B4	0.435	0.407	0.404	0.42	0.27	27.30
B9	0.167	0.157	0.149	0.16	0.10	10.04
B6	0.245	0.243	0.296	0.26	0.17	16.99
C2	0.114	0.094	0.095	0.10	0.06	6.25

Se identificó MMP-2 y MMP-9 en el gel de zimografía con base en el control positivo de medio de monocitos U-937 incluido en el primer carril, aunado a esto, el peso molecular de las bandas observadas en la actividad enzimática (figura 4) es similar a los pesos previamente reportados en la bibliografía: ProMMP9 ~ 92 kDa, MMP-9 ~ 82 kDa, ProMMP-2 ~72 kDa y MMP-2 ~ 62kDa (Flores *et al*, 2015).

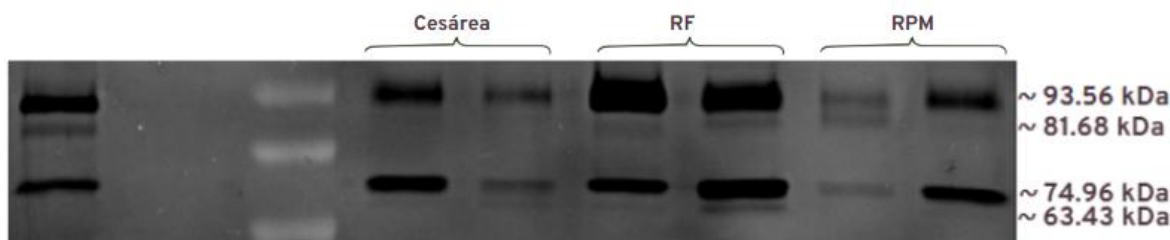


Figura 4. Zimografía representativa de la actividad gelatinolítica de MMP-2 y MMP-9 en corioamnios. Gel de poliacrilamida al 10% con gelatina. Los carriles corresponden a: control positivo (medio de monocitos U-937, carril 1), control negativo (buffer de homogeneizado, carril 2), marcador de peso molecular (carril 3), cesárea, RF y RPM.

Se observa una mayor actividad de ambas enzimas en RF debido a que las gelatinasas están relacionadas con este fenómeno producido al final de la gestación, sobre todo MMP-9 que se produce en mayor proporción durante este proceso, a diferencia de MMP-2 que se produce de manera constante durante la gestación para el mantenimiento de la MEC de la membrana fetal (Xu *et al*, 2002). En RPM se encontró una menor actividad enzimática (figura 5), hallazgo que concuerda con lo reportado en la literatura (Vadillo, 1998), esto debido a errores metodológicos durante el procesamiento y manipulación de las muestras, además del número reducido de las mismas, por lo tanto, es ideal trabajar con un mayor número de muestras para futuros estudios.

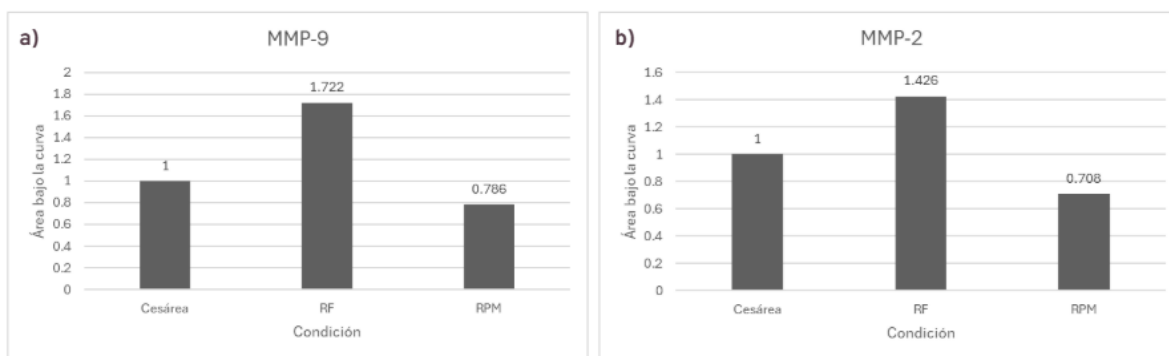


Figura 5. Cuantificación de la actividad gelatinolítica de MMP-9 (a) y MMP-2 (b) en corioamnios. Los resultados se expresan como área bajo la curva normalizada respecto al grupo de cesárea (valor = 1). Para MMP-9, el grupo de RF mostró mayor actividad relativa (1.722) en comparación con cesárea, mientras que RPM presentó actividad disminuida 0.786. De manera similar, MMP-2 mostró mayor actividad en RF (1.426) y reducida en RPM (0.708) respecto al grupo control.

7. Aporte a la sociedad.

El trabajo realizado permitirá utilizar en la clínica diferentes biomoléculas como metaloproteinasas para el diagnóstico temprano de la RPM, principalmente la MMP-9 que se observa, tiene un aumento significativo en cuanto a su expresión, convirtiéndolo en un blanco terapéutico y, a su vez, permitiendo el uso de nuevas tecnologías de biología molecular para la prevención de la RPM. De igual manera, es importante el estudio en la expresión de estas enzimas y otras moléculas estructurales de la MEC para la identificación de los principales procesos donde se encuentran involucradas y así explorarlos para identificar nuevas formas de diagnóstico y prevención de esta patología.

8. Conclusión.

No se encontró correlación entre la expresión génica de MMP-9 y su actividad catalítica de RPM respecto a RF y cesárea, sin embargo, si se encontró correlación entre expresión génica y la actividad catalítica de MMP-2 en la RPM respecto a RF y Cesárea.

9. Referencias.

- Amabebe, E., Ikumi, N., Oosthuizen, A., Soma-Pillay, P., Matjila, M., & Anumba, D. O. C. (2024). Gestation-dependent increase in cervicovaginal pro-inflammatory cytokines and cervical extracellular matrix proteins is associated with spontaneous preterm delivery within 2 weeks of index assessment in South African women. *Frontiers in Immunology*, 15, 1377500. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1377500>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Dayal, S., Jenkins, S. M., & Hong, P. L. (2025). Preterm and term prelabor rupture of membranes (PPROM and PROM). In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Flores-Pliego, A., Espejel-Núñez, A., Castillo-Castrejon, M., Meraz-Cruz, N., Beltran-Montoya, J., Zaga-Clavellina, V., Nava-Salazar, S., Sanchez-Martinez, M., Vadillo-Ortega, F., & Estrada-Gutierrez, G. (2015). Matrix metalloproteinase-3 (MMP-3) is an endogenous activator of the MMP-9 secreted by placental leukocytes: Implication in human labor. *PloS One*, 10(12), e0145366. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145366>
- Garg, A., & Jaiswal, A. (2023). Evaluation and management of premature rupture of membranes: A review article. *Cureus*, 15(3), e36615. <https://doi.org/10.7759/cureus.36615>
- Jiang, Y., Zhang, Y., Li, Y., Zhao, K., Zhao, Y., & Che, Y. (2025). Determinants for premature rupture of membranes: a prospective cohort study. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 25(1), 633. <https://doi.org/10.1186/s12884-025-07748-0>
- Kendal-Wright, C. E., Moore, J. J., Feng, L., Menon, R., David, A. L., Chowdhury, T. T., Crowther, M. F., Howe, C., Zhong, N., Clavellina, V. Z., Flores-Espinosa, P., Truong, N., Sapin-Deour, V., Blanchon, L., Zahra, A., Kammala, A. K., Cherukuri, R., Richardson, L. S., & Fetal Membrane Society Consortium. (2025). A call to standardize the nomenclature of human fetal membrane at the feto-maternal interface. *Placenta*, 170, 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2025.08.324>
- Lombardi, A., Makieva, S., Rinaldi, S. F., Arcuri, F., Petraglia, F., & Norman, J. E. (2018). Expression of matrix metalloproteinases in the mouse uterus and human myometrium during pregnancy, labor, and preterm labor. *Reproductive Sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 25(6), 938–949. <https://doi.org/10.1177/1933719117732158>

Menon, R., & Richardson, L. S. (2017). Preterm prelabor rupture of the membranes: A disease of the fetal membranes. *Seminars in Perinatology*, 41(7), 409–419. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2017.07.012>

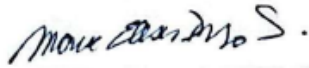
Vadillo-Ortega, F., & Estrada-Gutiérrez, G. (2005). Role of matrix metalloproteinases in preterm labour: ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES IN PRETERM LABOUR. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 112 Suppl 1(s1), 19–22. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2005.00579.x>

Vadillo, O.F. y col: Apoptosis y degradación de matriz extracelular en corioamnios durante el trabajo de parto y en la ruptura prematura de membranas. *Ginec Obst Mex* 1998; 66; 202

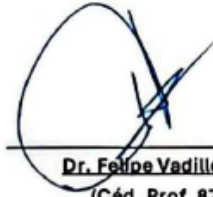
Vincent, Z. L., Mitchell, M. D., & Ponnampalam, A. P. (2015). Regulation of TIMP-1 in Human Placenta and Fetal Membranes by lipopolysaccharide and demethylating agent 5-aza-2'-deoxycytidine. *Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E*, 13(1), 136. <https://doi.org/10.1186/s12958-015-0132-y>

Xu, P., Alfaidy, N., & Challis, J. R. G. (2002). Expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in human placenta and fetal membranes in relation to preterm and term labor. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87(3), 1353–1361. <https://doi.org/10.1210/jcem.87.3.8320>

10. Visto bueno.



Dra. María Elisa Drago Serrano.
(No. Económico 17243)



Dr. Felipe Vadillo Ortega.
(Céd. Prof. 873992)