



Revista argentina de cardiología

ISSN: 0034-7000

ISSN: 1850-3748

Sociedad Argentina de Cardiología

ACEVEDO MONTERROSA, IVÁN D; SORIA, DAMIÁN A.; TOMAT, ANALÍA;
ELESGARAY, ROSANA; ARRANZ, CRISTINA; CANIFFI, CAROLINA

Programación intrauterina de enfermedad en la vida adulta: identificación de genes cardinales asociados a hipertensión arterial, obesidad y síndrome metabólico

Revista argentina de cardiología, vol. 89, núm. 1, 2021, Enero-Febrero, pp. 27-36

Sociedad Argentina de Cardiología

DOI: <https://doi.org/10.7775/rac.es.v89.i1.19666>

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=305367201005>

- ▶ Cómo citar el artículo
- ▶ Número completo
- ▶ Más información del artículo
- ▶ Página de la revista en redalyc.org

Programación intrauterina de enfermedad en la vida adulta: identificación de genes cardinales asociados a hipertensión arterial, obesidad y síndrome metabólico

Intrauterine Programming of Adult Disease: Identification of Cardinal Genes Associated with Hypertension, Obesity and Metabolic Syndrome

IVÁN D ACEVEDO MONTERROSA^{1,2}, DAMIÁN A. SORIA^{1,2}, ANALÍA TOMAT^{1,2}, ROSANA ELESGARAY^{1,2}, CRISTINA ARRANZ^{1,2}, CAROLINA CANIFFI^{1,2}

RESUMEN

Introducción: La restricción del crecimiento intrauterino es una alteración del desarrollo fetal que se caracteriza por una tasa de crecimiento durante la etapa fetal que es menor al potencial genético de crecimiento para la edad gestacional. Esta condición plantea una carga importante para la salud pública, ya que aumenta la morbilidad de la descendencia, a corto y a largo plazo, particularmente, por asociarse al desarrollo de enfermedad cardiovascular y metabólica en la vida adulta.

Objetivos: Mediante el uso de herramientas bioinformáticas nos propusimos identificar posibles genes cardinales involucrados en la restricción del crecimiento intrauterino asociados al desarrollo de obesidad, hipertensión arterial y síndrome metabólico.

Material y métodos: Obtuvimos un total de 343 genes involucrados en los fenotipos de interés e identificamos 20 genes que resultaron significativamente relevantes en el análisis de la red de interacción. Particularmente, cuatro de estos genes identificados codifican para factores de crecimiento o sus receptores, VEGFA, PDGFRB, IGF1R y EGFR. Además, identificamos genes relacionados con la insulina y el control de la homeostasis cardiovascular, como son el CTNNB1, APP, MYC y MDMD2. Por otra parte, el análisis de clústeres permitió reconocer los términos de ontología genética más significativos, entre los que se destacan aquellos relacionados con procesos biológicos de proliferación y muerte celular programada, de comunicación intercelular, del metabolismo proteico, y de desarrollo del sistema cardiovascular.

Conclusiones: Los genes hallados en este estudio podrían ser de utilidad como biomarcadores putativos de la presencia de alteraciones cardiovasculares y metabólicas asociadas a la restricción del crecimiento intrauterino o potenciales blancos terapéuticos de estrategias de tratamiento orientadas al genotipo del paciente.

Palabras claves: Biología computacional - Ontología de genes - Retardo del crecimiento fetal - Hipertensión - Obesidad - Síndrome metabólico

ABSTRACT

Background: Intrauterine growth restriction is an abnormal fetal development characterized by a fetal growth rate lower than the potential genetic growth for the gestational age. This condition represents a major burden for public health systems, as it increases short and long-term morbidity and mortality in the offspring, particularly because of its association with the development of cardiovascular and metabolic disease in adult life.

Objectives: The aim of the present study was to identify possible cardinal genes involved in intrauterine growth restriction associated with the development of obesity, hypertension and metabolic syndrome using bioinformatics tools.

Methods: A total of 343 genes involved in the phenotypes of interest were obtained and 20 genes were identified as significantly relevant in the interaction network analysis. Specifically, four of these identified genes encode for growth factors or their receptors, VEGFA, PDGFRB, IGF1R and EGFR. We also identified genes related to insulin and cardiovascular homeostasis as CTNNB1, APP, MYC and MDMD2. Cluster analysis provided the most significant gene ontology terms, including those related to the biological processes of proliferation and programmed cell death, intercellular communication, protein metabolism and development of the cardiovascular system.

Conclusions: The genes found in this study could be useful as putative biomarkers for the presence of cardiovascular and metabolic disorders associated with intrauterine growth restriction, or as potential therapeutic targets for treatment strategies directed to the patient's genotype.

Key words: Computational Biology - Gene Ontology - Fetal Growth Retardation - Hypertension - Obesity - Metabolic Syndrome

REV ARGENT CARDIOL 2021;89:27-36. <http://dx.doi.org/10.7775/rac.es.v89.i1.19666>

Recibido: 24/11/2020 - Aceptado: 08/01/2021

Dirección para separatas: Carolina Caniffi - Cátedra de Fisiología - Junín 956, piso 7, CABA (C1113AAD), Argentina - Teléfono: +541152874713 - E-mail: ccaniffi@ffybuba.ar

Financiamiento: Este trabajo fue financiado por la Universidad de Buenos Aires (UBA) [UBACYT 20020170200093BA, 2018-2019; 20020190200227BA, 2020-2021] y el Instituto de Química y Metabolismo del Fármaco (IQUIMEFA), UBA-CONICET, Argentina.

¹Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Cátedra de Fisiología. Buenos Aires, Argentina.

²CONICET-UBA. Instituto de Química y Metabolismo del Fármaco (IQUIMEFA). Buenos Aires, Argentina.

Abreviaturas

HPA Human Protein Atlas
HTA Hipertensión arterial

RCIU Restricción del crecimiento intrauterino
SM Síndrome metabólico

INTRODUCCIÓN

El desarrollo durante el período prenatal es un proceso altamente dinámico en el que se combinan factores maternos, placentarios y fetales, junto con factores genéticos y ambientales, que pueden modular la proliferación y maduración celular, durante las etapas embrionaria y fetal del crecimiento intrauterino. (1, 2)

La restricción o retardo del crecimiento intrauterino (RCIU) es una alteración del desarrollo fetal que puede estar presente en aproximadamente el 5% al 15% de los niños nacidos vivos, (3, 4) y que se caracteriza por una tasa de crecimiento durante la etapa fetal que es menor que el potencial genético de crecimiento para la edad gestacional. (2) Esta complicación durante el embarazo plantea una carga importante para los sistemas de salud, ya que aumenta la morbilidad y la mortalidad de la descendencia, tanto a corto como a largo plazo. (5, 6)

En la década de 1980, Barker postuló que la enfermedad cardiovascular en el adulto podría tener sus orígenes en la vida fetal con base en la observación de la distribución geográfica de la mortalidad infantil a principios del siglo XX, que era similar a la de muerte por cardiopatía isquémica aproximadamente 60 años después. (7) Desde entonces, se han realizado numerosos estudios epidemiológicos, clínicos y experimentales, que permitieron profundizar el conocimiento de los factores que pueden afectar negativamente el desarrollo durante el período fetal, entre ellos la malnutrición materna, la hipertensión gestacional, la preeclampsia/eclampsia, la diabetes gestacional, la menor actividad del sistema renina angiotensina en los riñones, y la exposición a hipoxia o estrés. (2) En particular, numerosos estudios han apoyado la hipótesis de la programación temprana de la enfermedad cardiovascular en la vida adulta; el aporte de nutrientes al feto es una de las principales causas. (8-11) Además, en un esfuerzo por conservar energía y sobrevivir a expensas de completar el crecimiento fetal en un entorno de suministro inadecuado de nutrientes, se ha observado la alteración de la homeostasis de la glucosa y la insulina fetal, que modifica el perfil metabólico en los tejidos, y programa la expresión de adaptaciones en la vida posnatal asociadas a la resistencia a la insulina y al exceso de peso. (12) Más aún, se ha observado que el daño al que se expone a un individuo durante su desarrollo intrauterino puede tener consecuencias metabólicas en las generaciones posteriores. (13, 14)

En la sociedad moderna, y particularmente en Argentina, existe una alta prevalencia de los factores de riesgo para el desarrollo de las enfermedades cardiovasculares y metabólicas. (15) Por lo tanto, el desarrollo de estrategias de detección temprana de la

susceptibilidad de un individuo, que nació con RCIU, a presentar enfermedad cardiovascular o metabólica en la vida adulta podría mitigar el riesgo de consecuencias a largo plazo de la RCIU mediante intervenciones terapéuticas y estrategias de tratamiento orientadas.

Actualmente, contamos con gran cantidad de datos en la bibliografía sobre la RCIU, la hipertensión arterial (HTA), la obesidad y el síndrome metabólico (SM). Este último representa la asociación de varios factores de riesgo cardiovascular entre los que se incluye la obesidad, la HTA, la dislipemia, y la resistencia a insulina. (16) Sin embargo, estos datos de la bibliografía se encuentran fragmentados en diferentes niveles de información biológica (genómica, transcriptómica, proteómica). El procesamiento e integración de datos usando herramientas bioinformáticas nos acerca a la posibilidad de aplicar una medicina personalizada.

Por lo tanto, en el presente trabajo nos propusimos evaluar e identificar posibles genes cardinales involucrados en la RCIU asociados al desarrollo de HTA, obesidad y SM, y los procesos biológicos que puedan estar alterados.

MATERIAL Y MÉTODOS**Recolección de datos**

Los genes relacionados con las condiciones de RCIU, obesidad, HTA, y SM, fueron recolectados en julio 2019 a partir de las siguientes bases de datos: Phenotype-Genotype Integrator (PheGenI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gap/phegeni>), Gene NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>), Clinvar (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), (17) Database of gene-disease associations (DisGeNET <https://www.disgenet.org/>), (18) European Bioinformatic Institute (EBI <http://www.ebi.ac.uk>) (19) y Comparative Toxicogenomics Database (CTD <http://ctdbase.org>). (20) De esta última, se seleccionaron únicamente los genes con una relación directa con los fenotipos basada en la bibliografía publicada.

Construcción de las redes de interacción genética

Las redes de interacción genética son una representación matemática de la interacción entre genes codificantes de proteínas en sistemas biológicos. Esta relación se establece a través de diferentes métodos, como minería de textos, información basada en experimentos, interacciones establecidas por modelos de ortología, métodos estadísticos, y predicciones basadas en características proteicas. Para la creación de las redes de interacción se emplearon tres herramientas ampliamente usadas: Search Tool for the Retrieval of Interaction Genes/Protein (STRING <https://string-db.org/>) (21) creada por Swiss Institute of Bioinformatics (SIB) y European Molecular Biology Laboratory (EMBL); Consensus Path DB-Human (CPDB <http://cpdb.molgen.mpg.de/>), (22) desarrollada por MAX Planck Institute for Molecular Genetics; y Gene MANIA (<https://genemania.org/>) (23) desarrollada por Donnelly Centre for Cellular and Biomolecular Research en la Universidad de Toronto, Canadá.

Análisis de redes de interacción genética y evaluación topológica

Las redes fueron visualizadas y analizadas en Cytoscape V3. (24) Los genes más relevantes fueron determinados en relación con el grado de centralidad (*Degree of centrality*) una medida de centralidad topológica que define el número de aristas que inciden en un nodo. Es decir, se utiliza para identificar genes relevantes involucrados directamente con otros genes codificantes de proteínas de la red. La ecuación para calcularlo es la siguiente:

Los genes más relevantes fueron determinados en relación con el grado de centralidad (*Degree of centrality*), una medida de centralidad topológica que define el número de aristas que inciden en un nodo (25).

Para un gráfico B y un nodo v_i , \deg representa el número de artistas

$$B(v_i) = \deg(v_i)$$

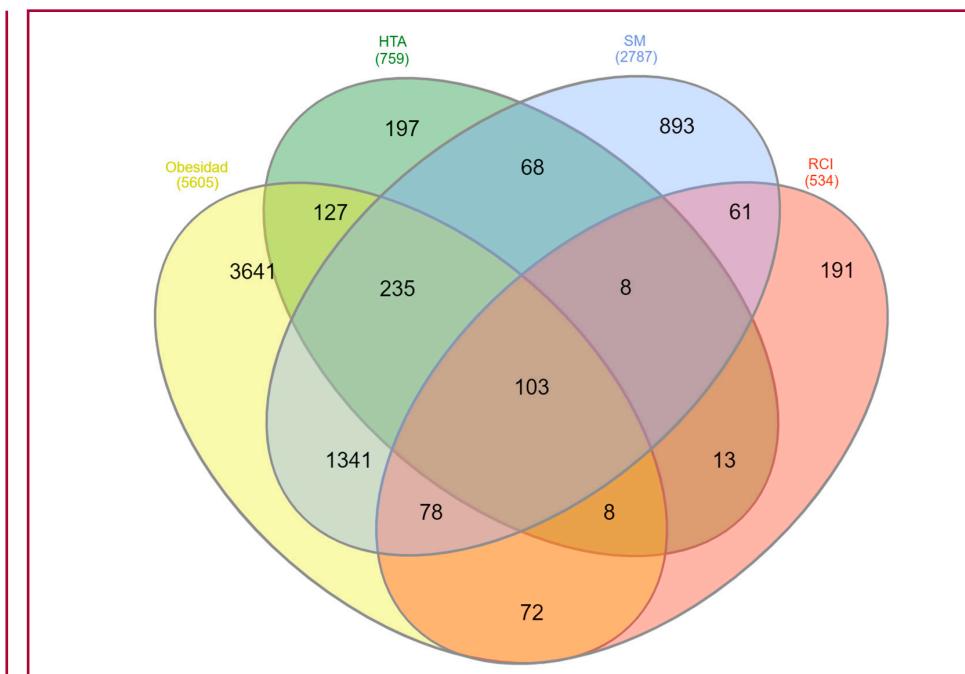
Otra propiedad tenida en cuenta fue la intermediación de nodos (*Betweenness centrality*), que representa cuantitativamente el número de veces que el nodo funciona como un intermediario entre otros nodos. Por lo tanto, esta medida muestra conectores claves para la dinámica de una red biológica. Es calculada usando la siguiente formula: (26)

$$B(v_i) = \sum_{s \neq v_i \neq t} \frac{\sigma_{st}(v_i)}{\sigma_{st}}$$

Para un gráfico B, un nodo v_i , y dos nodos diferentes a v_i (s y t). Donde $\delta_{st}(v_i)$ es el número de caminos más cortos desde s a t que involucran a v_i y δ_{st} el camino más corto de s a t .

Además de las características de centralidad, se investigó el tejido en el que dichos genes se encontraban sobreexpresados con fines descriptivos. Para esto, usamos Human Protein Atlas (HPA), (27) una base de datos desarrollada por el Instituto Karolinska en asociación con otras instituciones, en la que se centraliza información de expresión de transcritos proveniente de diferentes fuentes. Agregado a esto, paquetes adicionales de Cytoscape fueron instalados para detectar regiones densas o clúster de proteínas. La aplicación Molecular complex detection (Mcode) (28) fue utilizada para este fin,

Fig. 1. Diagrama de Venn de genes alterados en los fenotipos de obesidad, hipertensión arterial, síndrome metabólico y restricción del crecimiento intrauterino



el análisis se llevó a cabo con un *Degree* de 3, *Node score* 0,2 y un *K-score* de 2.

Análisis funcional

El análisis de enriquecimiento funcional de los genes se llevó a cabo usando gProfiler (<https://biit.cs.ut.ee/gprofiler/gost/>). (29) Este servidor público otorga una colección de herramientas usadas de manera estandarizada en análisis biológicos, lo que permite la identificación de vías biológicas y categorías de ontología genética, que incluyen procesos biológicos (BP: *biological processes*), funciones moleculares (MF: *molecular functions*) y componentes celulares (CC: *cellular components*). El método de corrección de Benjamini-Hochberg fue utilizado para el cálculo del *false discovery rate* (FDR). Se establecieron valores de $p < 0,001$ y de $FDR < 0,05$ como significativos. Adicionalmente las anotaciones electrónicas automáticas fueron excluidas y al menos 5 términos *query* fueron requeridos para aceptar una anotación funcional, con el fin de reducir la probabilidad de falsos positivos. A continuación, fueron seleccionaron los términos de ontología más significativos según el FDR y, usando la herramienta REVIGO (Reduce and Visualize Gene Ontology, <http://revigo.irb.hr/>), (30) se removieron los términos redundantes.

Consideraciones éticas

No aplicable

RESULTADOS

Lista de genes

Se obtuvieron 5605, 759, 2787 y 532 genes relacionados con los fenotipos de obesidad, HTA, SM y RCIU, respectivamente. Al aplicar teoría de conjuntos se encontraron 343 genes superpuestos entre la RCIU y las otras 3 entidades (Figura 1).

Red de interacción genética

Los 343 genes resultantes de la superposición se utilizaron para la creación de las redes. La red obtenida contenía 12633 conexiones (Figura 2).

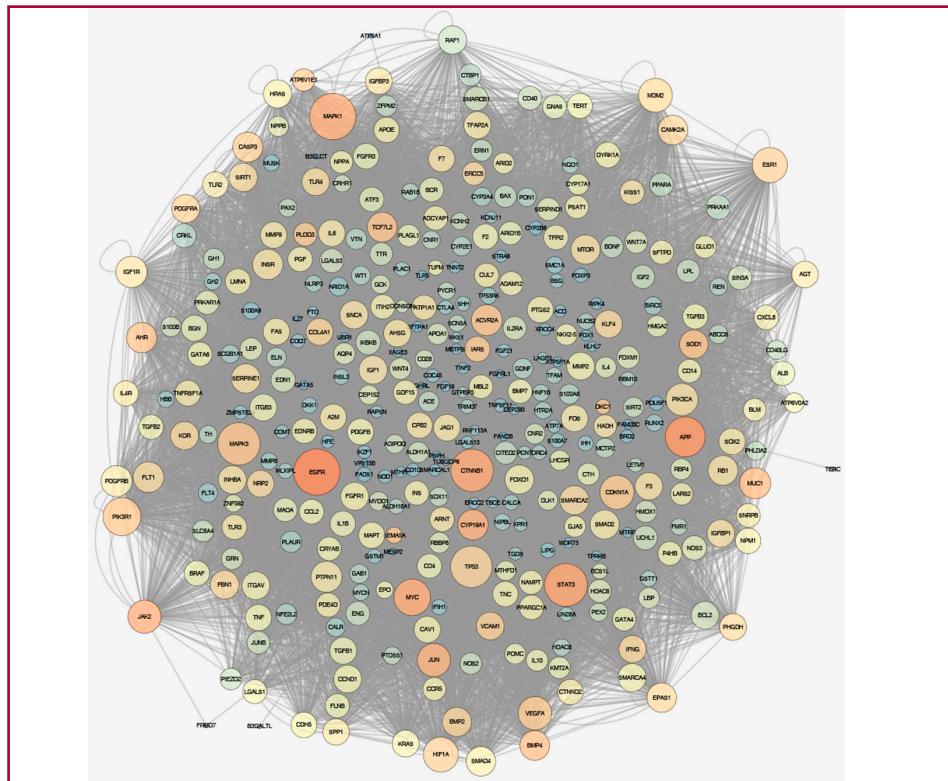


Fig. 2. Red de integración genética unificada de los 343 nodos con 12633 interacciones. El diámetro del nodo se relaciona directamente con el grado de centralidad y el color con la intermediación, siendo mayor el valor para ese gen cuanto más similar es al color rojo.

Subsecuentemente, se obtuvo el top 20 de genes: EGFR, receptor del factor de crecimiento epidérmico; MAPK1, proteína quinasas activadas por mitógenos 1; STAT3, transductor de señal y activador de la transcripción 3; CTNNB1, beta-catenina 1; MAPK3, proteína quinasas activadas por mitógenos 3; TP53, proteína supresora de tumores 53; APP, proteína precursora amiloidea; PIK3R1, subunidad reguladora 1 de fosfoinositol 3-quinasas; MYC, protooncogen bHLHe39, proteína básica hélice-bucle-hélice 39; ESR1, receptor de estrógeno alfa; HIF1A, subunidad alfa del factor 1 inducible por hipoxia; CDKN1A, inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina 1A; MDM2, protooncogen MDM2; VEGFA, factor de crecimiento endotelial vascular A; JAK2, janus quinasa 2; JUN, C-jun, subunidad factor de transcripción AP-1; PIK3CA, subunidad 1 alfa catalítica de fosfoinositol-3-quinasas; IGF1R, receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1; MUC1, mucina epitelial 1; PDGFRB, factor de crecimiento derivado de plaquetas. Seleccionados según los resultados del análisis topológico, los valores resultantes fueron de 128 a 239 y 0,00342065 a 0,0131197 para el grado de centralidad e intermediación, respectivamente (Tabla 1). En la misma tabla, se muestran los términos de ontología genética, la función principal del gen y el tejido donde es sobreexpresado. Como puede observarse en la tabla, algunos de estos genes tienen una expresión ubicua (Tabla 1).

Clústeres de proteínas

Luego de haber identificado los genes codificantes de proteínas más importantes de la red, se realizó un análisis más amplio de la red. Como se ha mencionado previamente, la red está conformada por genes superpuestos entre la RCIU y patologías que representan un riesgo cardiovascular como obesidad, HTA y SM. Por lo tanto, se procedió a localizar zonas densas de complejos de proteínas para, luego, continuar con la identificación de términos de ontología implicados en cada uno de los clústeres hallados (Figura 3). Se excluyeron los clústeres conformados por menos de 3 nodos, debido a que podrían mostrar resultados poco confiables en la determinación de términos de ontología. Como resultado, ocho clústeres fueron identificados, conformados por entre 5 y 50 nodos (Figura 3).

DISCUSIÓN

Este estudio es el primero, según nuestro conocimiento, en utilizar el análisis de redes para evaluar la interacción compleja entre la RCIU y los fenotipos de obesidad, HTA, y SM, en búsqueda de genes cardinales que tendrían potencial función como biomarcadores putativos del desarrollo de estos fenotipos en individuos que presentaron RCIU o que podrían ser empleados como potenciales blancos terapéuticos.

Tabla 1. Top 20 de genes centrales de la red de interacción

Gen	Grado de centralidad	Intermediación	Proteína	Locus	Función	Términos GO	Tejido en el que se expresa
EGFR	2239	0.0131197	Receptor del factor de crecimiento epidérmico	7p11.2	Glucoproteína transmembrana. Regula positivamente la proliferación y migración celular	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of cell proliferation, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling, enzyme binding, phosphatase binding, identical protein binding, phosphatase binding, phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor, focal adhesion, membrane raft</i>	Placenta, tejido mamario, piel, hígado, tejido adiposo
MAPK1	239	0.00933646	Proteína quinasas activadas por mitógenos 1	22q11.22	Según el contexto celular tiene diversas funciones biológicas como crecimiento celular, adhesión, supervivencia y diferenciación.	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling, enzyme binding, phosphatase binding, identical protein binding, phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor, focal adhesion, membrane raft</i>	Ganglios basales, corteza cerebral, amígdala, músculo esquelético
STAT3	214	0.01061652	Transductor de señal y activador de la transcripción 3	17q21.2	Respuestas celulares a factores de crecimiento. Función basal de células beta.	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of cell proliferation, enzyme binding, phosphatase binding, identical protein binding, transcription factor binding, RNA polymerase II transcription factor complex</i>	Hígado, músculo cardíaco, granulocitos, músculo esquelético, vagina, músculo liso
CTNNB1	211	0.00990833	Beta-catenina 1	3p22.1	Mantenimiento y desarrollo de las capas de células epiteliales. Involucrada en la internalización de la insulina.	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of cell proliferation, positive regulation of cellular biosynthesis, enzyme binding, phosphatase binding, transcription factor binding, focal adhesion, RNA polymerase II transcription factor complex, membrane raft</i>	*Ovario, placenta, endometrio, cerebro, retina, músculo liso, glándula tiroides
MAPK3	210	0.00675088	Proteína quinasas activadas por mitógenos 3	16p11.2	Apoptosis, proliferación celular, adhesión, diferenciación, dinámica endosomal y supervivencia celular.	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling, enzyme binding, phosphatase binding, identical protein binding, focal adhesion, phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor, membrane raft</i>	*Amígdala, corteza cerebral, intestino delgado, colon, esófago
TP53	204	0.00518495	Proteína supresora de tumores 53	16p11.2	Factor de transcripción con actividad antitumoral mediante la regulación negativa de genes involucrados en la proliferación celular.	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of cell proliferation, enzyme binding, phosphatase binding, identical protein binding, transcription factor binding, p53 binding, RNA polymerase II transcription factor complex</i>	Timo, ovario, apéndice, nódulos linfáticos, esófago, piel

(continúa)

(continuación)

Gen	Grado de centralidad	Interme-diación	Proteína	Locus	Función	Términos GO	Tejido en el que se expresa
APP	193	0.01175245	Proteína precursora amiloidea	17p13.1	Receptor de superficie celular y precursor transmembrana. Involucrada en movilidad y transcripción celular. Relacionada en la internalización de péptido amiloide beta que lleva a disfunción mitocondrial.	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of cell proliferation, cellular response to organic substance, enzyme binding, identical protein binding, membrane raft</i>	*Encéfalo, riñones, glándula adrenal, tejido mamario, placenta, músculo liso, músculo cardíaco
PIK3R1	179	0.00742799	subunidad 1 reguladora, fosfoinositol 3-quinasas	21q21.3	Metabolismo de insulina. Modula la respuesta celular a estrés del retículo endoplasmático.	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling, enzyme binding, phosphatase binding, transcription factor binding, RNA polymerase II transcription factor complex</i>	*Glándulas salivales, médula ósea, músculo esquelético, hígado, tejido mamario, corteza cerebral, músculo liso, músculo cardíaco
MYC	168	0.00936675	Protoonco-gen bHL-He39, proteína básica hélice-bucle-hélice 39	5q13.1	Progresión del ciclo celular y diferenciación celular. Promotor de angiogénesis. Regula la reprogramación somática, dado que controla la autorrenovación en células embrionarias.	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of cell proliferation, transcription factor binding, RNA polymerase II transcription factor complex</i>	*Piel, músculo esquelético, tejido adiposo, páncreas, trompas de Falopio, células T, tejido linfático
ESR1	158	0.00630876	Receptor de estrógeno alfa	8q24.21	Regulación de crecimiento, diferenciación y funciones en sistema reproductivo. Mantenimiento de homeostasis ósea, cardiovascular y nerviosa.	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, enzyme binding, phosphatase binding, identical protein binding, transcription factor binding, RNA polymerase II transcription factor complex</i>	Endometrio, cérvix, epidídimo, músculo liso, tejido mamario
HIF1A	157	0.00598343	Subunidad alfa del factor 1 inducible por hipoxia	6q25.1 - q25.2	Regulador maestro de respuesta a hipoxia. Vascularización embrionaria, angiogénesis y fisiopatología de enfermedad isquémica.	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of cell proliferation, enzyme binding, phosphatase binding, transcription factor binding, p53 binding, RNA polymerase II transcription factor complex</i>	*Médula ósea, riñón, glándula adrenal, vaso, granulocitos, cérvix, pulmones *Intestino delgado, hígado, músculo esquelético, tejido adiposo, esófago, colon
CDKN1A	150	0.00635673	Inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina 1A	14q23.2	Regulación negativa de progresión del ciclo celular y respuesta a daño de ADN.	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of cell proliferation, enzyme binding, phosphatase binding, phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor, RNA polymerase II transcription factor complex</i>	*Intestino delgado, hígado, músculo esquelético, tejido adiposo, esófago, colon
MDM2	149	0.00535669	Protoonco-gen MDM2	12q15	La ubiquitinación de p53/TP53 lleva a su degradación, lo que promueve el desarrollo tumoral. Regula negativamente receptores de AMPA, necesaria para el reflejo barorreceptor en respuesta a cambios de presión arterial	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of cell proliferation, enzyme binding, identical protein binding, phosphatase binding, p53 binding</i>	*Timo, hígado, placenta, médula ósea, páncreas, músculo esquelético, granulocitos

(continúa)

(continuación)

Gen	Grado de centralidad	Intermediación	Proteína	Locus	Funcióñ	Términos GO	Tejido en el que se expresa
VEGFA	145	0.00646737	Factor de crecimiento endotelial vascular A	6p21.1	Angiogénesis, vasculogénesis y crecimiento de células endoteliales. Relacionado con complicaciones en la microvasculatura en diabéticos.	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of cell proliferation, identical protein binding, focal adhesion</i>	* Glándula tiroidea, hígado, músculo cardíaco, endometrio, músculo esquelético, vejiga, próstata
JAK2	143	0.01015	Janus quinasa 2	9p24.1	Señalización en inmunidad innata y adaptativa. Transducción de señales en el citoplasma de hormonas como leptina, prolactina, eritropoyetina y trombopoietina. Fosforila al STAT.	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of cell proliferation, regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling, enzyme binding, phosphatase binding, identical protein binding, phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor, focal adhesion, membrane raft</i>	Granulocitos, músculo cardíaco, vaso, tejido adiposo, nódulos linfáticos, piel
JUN	143	0.00874665	C-jun, subunidad factor de transcripción AP-1	1p32.1	Factor de transcripción que incrementa la expresión de genes esteroidogénicos. Involucrado en tumores malignos y daño al nervio óptico por hipertensión.	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of cell proliferation, enzyme binding, identical protein binding, transcription factor binding, phosphatase binding, RNA polymerase II transcription factor complex</i>	*Tejido reproductor femenino, médula ósea, tejido adiposo, glándula tiroidea, piel, pulmones
PIK3CA	136	0.00425497	Subunidad 1 alfa catalítica fosfoinositol 3-quinasas	3q26.32	Señalización celular en respuesta a factores de crecimiento como insulina, VEGFA o PDGF. Cardiomiogénesis en embriones mediante la vía AKT1.	<i>Cellular response to organic substance, regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling, phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor, RNA polymerase II transcription factor complex</i>	*Timo, médula ósea, glándula paratiroides, corteza cerebral, tejido mamario, tejido adiposo
IGF1R	130	0.00415681	Receptor factor de crecimiento similar a la insulina 1	15q26.3	Mantenimiento de células malignas. Activación de las vías PI3K-AKT/PKB y Ras-MAPK con inhibición de la apoptosis y aumento de la proliferación celular.	<i>Cellular response to organic substance, regulation of cell proliferation, regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling, identical protein binding, phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor, RNA polymerase II transcription factor complex</i>	*Vesículas seminales, ovario, cerebro, páncreas, próstata, músculo liso, placenta
MUC1	129	0.00825035	Mucina epitelial 1	1q22	Formación de barrera mucosa con fines protectores en la superficie epitelial. Señalización intracelular las vías de ERK, SRC, NF-kappa-B y Ras/MAPK.	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, p53 binding, membrane raft, RNA polymerase II transcription factor complex</i>	Vesícula biliar, riñón, pulmones, estomago, páncreas, esófago
PDGFRB	128	0.00342065	Factor de crecimiento derivado de plaquetas	5q32	Mitógeno para células de origen mesenquimal. Esencial para el desarrollo del sistema cardiovascular. Involucrado en internalización de receptores, angiogénesis, migración de células de músculo liso y reorganización de esqueleto de actina	<i>Cellular response to organic substance, positive regulation of cellular biosynthesis, regulation of cell proliferation, regulation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling, enzyme binding, phosphatase binding, phosphotransferase activity, alcohol group as acceptor, focal adhesion, membrane raft</i>	Tejido reproductor femenino, tejido adiposo, músculo liso, músculo esquelético, pulmones, músculo cardíaco

Términos GO: Términos de ontología genética; STAT: transductor de señales y activador de la transcripción; VEGFA: Factor de crecimiento endotelial vascular A; PDGF: Factor de crecimiento derivado de plaquetas; PI3K: Fosfoinositol 3-quinasas; AKT1: Gen que codifica para proteína quinasa B; PKB: Proteína quinasa B; MAPK: Proteína quinasa activada por mitógenos; ERK: Proteína quinasa regulada por señales extracelulares; SRC: Proteína quinasa SRC; NFkappa-B: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas.

Con * se identifican los genes de distribución ubicua.

Clúster	Genes	Términos de ontología genética	MCODE Score	
1		JAK2, PIK3R1, PTPN11, EGFR, STAT3, PDGFRB, GALS13, SIRT1, AHR, SERPIN, FGFR1, FOXO1, CYP2E1, IGF1, F3, IGF1R, MBL2, MLXPL, RBP4, FOS, MYC, JUN, CTNNB1, CDKN1A, CAV1, PTGS2, CDKN1A, ITGA9, MAPK1, GLUD1, KDR, FGFR3, CCL2, RB1, A2M, ALB, IL6, FAM20C, CXCL8, ARNT, APOA4, CYP3A1, PDGFRB, LGALS13, VEGFA, FLT4, VCAM1, PLAC1, GH2	Regulación positiva de la proliferación celular; respuesta a componentes químicos; regulación de la apoptosis; adhesión focal; sistema de endomembranas; unión de factores de crecimiento; actividad de proteínas quinasa	20,082
2		MAPK3, FGF19, RAF1, PRKAA1, SERPINE1, SMAD2, AGTF3, SMAD4, PIK3CA, TLR4, TERT, SMARCA4, BMP2, IFNG, ESR1, TGFBI, BMP4, GAB, FAS, CCND1, BGN, MUC1, JUNB, TNC, TNFRSF1A, KLF4, PRKAR1A, LMNA, BCL2, ACVR2A, CITED2, FBN1, COL4A1, TNF, APP, CD4, S100A8, EPAS1, PDGFB, IL4R, ADAM12, NRP2, TGFBI3, SMARCB1, HIF1A, INHBA, MMP9, TLR2, IL4R, PDGFB, CYP2B6	Regulación positiva de la proliferación celular; respuesta a químicos; regulación de la apoptosis; adhesión focal; sistema de endomembranas; unión de factores de crecimiento; actividad de proteínas quinasa	18,245
3		APOE, NOS3, TFP2I, AGT, AHSG, PDE4D, CRKL, UCHL1, P4HB, IGFBP1, BLM, TP53, MDM2, IGF2, F7, RUNX2, BIRC5, F2, LGALS1, CAMK2A, IKBKB, VTN, CASP3, S100A9, MAOA, NFE2L2, CRYAB, IRS1, FLT1, TGFB2, TLR3, SNCA, SIN3A, PLAUR, SMARCA2, ELN, BRAF, MTOR, LGALS3, MUSK, GDNF, NAMPT, NLRP3, BDNF, GATA6, RIPK4, PGF, CYP19A1, PDGFR, TP53RK, JAG1, KRAS, ITGB3	Regulación positiva de la respuesta a estímulos; regulación del metabolismo proteico; región extracelular; uniones célula-célula; actividad de factores de crecimiento; unión del factor insulino-símil	13,815
4		TCF7L2, FMR1, PON1, EDNRB, ITIH2, DYRK1A, LPL, KCNH2, TFAP2A, NPM1, CTNND2, ADIPOQ, GH1, MAPT, LEP, KISS1, ENG, SLC6A4, AQP4, LARS2, CD14, WNT7A, HRAS, CD40, CCR5, IL2RA, BAX, ERCC5, FBN1, GDF15, DLK1, ARID1B, HMOX1, BCR, SPP1, SOD1, PIEZO2, SEMASA, MCTP2, ARID2, BMP7, CPB2, ATP6V1E1, PHLD2	Regulación positiva de la comunicación celular; respuesta a componentes químicos; región extracelular; uniones célula-célula; actividad de homodimerización proteica; unión de apolipoproteína	9,302
5		CEP290, MMP8, WT1, MYOD1, TH, NPPA, GATA4, SMARCA1, KMT2A, CD28, PAX2, HTR2A, ORC4, GJA5, HDAC8, DKK1, FOXM1, RBBP8, CNR2, NPPB, FOXP3, ADCYAP1, CALCA, CYP17A1, INS, GHRL, SOX11, PEX2, CNR1, HADH, LHGR, POMC, RAB18, ERCC2, RBM10, PQUSF1, CTBP1, BSG, FTO, CUL7, MYCN, FGF21, PYRCR1, SNRPB	Biosíntesis celular; cromosomas; núcleo; actividad de factor de transcripción de ARN polimerasa II; unión a doble cadena de ADN	6,773
6		PLAGL1, TNFSF11, NKX2-5, IL4, ACE, CD40LG, CTH, SCGB1A1, ZFP2M2, GNR, LBP, NOS2, FPARGC1A, ATP1A1, PSAT1, IARS, IL10, PHGDH, SMC1A, ERN1, WNT4, ABCC8, GSTM1, PPARA, GATA5, ALDH1A1, FADS1, HFE, HDAC6, SIRT2, NIPBL, DKK1, SOX2, GNAS, HBB, TRIM37, LIN28A, ARID1A, ATP6VOA2, SFTP2D	Respuesta a estrés; regulación positiva del metabolismo; cromosomas; región extracelular; actividad de transporte de ATPasas de cationes; unión a cromatina	6,103
7		DONSON, PLOD3, PTDSS1, ALDH1A1, NUCB2, CALR, MTHFD1, CEP152, S100B	Unión a iones calcio; unión a opsonina	3,5
8		KLHL7, SCN5A, HNF1B, TNNT2, REN	Desarrollo del VI; contracción celular mediada por actina; sistema circulatorio	3

Fig. 3. Clústeres de proteínas y términos de ontología más significativos identificados. En cuanto a los términos de ontología, en color azul se identifican aquellos que corresponden a los procesos biológicos, en color naranja a aquellos que corresponden a los compartimientos celulares, y en color verde a aquellos que corresponden a la función molecular

Identificamos un total de 20 genes que resultaron significativamente relevantes en el análisis de la red de interacción, la gran mayoría de estos genes estuvieron relacionados con vías de señalización intracelular asociadas a respuesta a sustancias orgánicas, y a regulación positiva de la biosíntesis celular. De acuerdo con los resultados obtenidos, al menos cuatro de estos genes identificados codifican para factores de crecimiento o sus receptores, VEGFA, PDGFRB, EGFR e IGF1R. Es de destacar la identificación de IGF1R, cuyo ligando, el factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF1), es sintetizado en el hígado, aunque se expresa ubicuamente, y puede modular el metabolismo de hidratos de carbono y lípidos. Su liberación es estimulada por la hormona de crecimiento y la insulina. Cuando hay restricción calórica, los niveles de IGF-1 disminuyen y su síntesis en el hígado es refractaria a la estimulación de la hormona de crecimiento. (31) Este proceso limita el crecimiento y la síntesis de proteínas cuando la disponibilidad de nutrientes se ve comprometida. Por otra parte, en estados fisiopatológicos, incluido el aumento de la resistencia a la insulina, el número de receptores IGF1R cambia, lo que anula la posibilidad de que el IGF-1 module el metabolismo de la glucosa, por lo que se lo asocia al desarrollo o mantenimiento del SM. (32)

Por otra parte, la identificación de cuatro genes cardinales que se expresan en tejidos estrechamente relacionados con los fenotipos estudiados, como la placenta, los distintos tipos de músculo y el tejido adiposo, resultan de interés, ya que aún no han sido evaluados en la práctica como biomarcadores en los fenotipos incluidos en este estudio.

El gen CTNNB1 está involucrado en la internalización de la insulina y la expresión de su proteína se ha encontrado como vía de señalización involucrada en la hipertrofia cardíaca, (33) además de modular negativamente la diferenciación de adipocitos. (34) Por lo tanto, este gen puede ser de interés para los tres fenotipos estudiados.

El gen APP, que se expresa en la placenta y en el tejido muscular cardíaco y liso, de acuerdo con el análisis de HPA, está relacionado con los procesos de transcripción celular. Su identificación resulta de interés, ya que comúnmente se lo asocia con la enfermedad de Alzheimer, pero actualmente se asocia también al SM. La vía de señalización intracelular de la insulina está involucrada en el metabolismo de la proteína amiloide, a la vez que esta puede unirse a los receptores de insulina, lo que desencadena su internalización y disminuye así la respuesta de las neuronas a la insulina y promueve la resistencia a la insulina. (35)

Además, la identificación de dos protooncogenes, MYC y MDMD2, en el análisis de redes de interacción génica pone de manifiesto la relevancia de los procesos de progresión del ciclo celular y la diferenciación celular. Ambos con funciones relacionadas con el mantenimiento de la homeostasis cardiovascular, han sido

escasamente explorados en la bibliografía en relación con estos fenotipos, y su inclusión como posibles biomarcadores o blancos terapéuticos también resulta de interés.

Por otra parte, el análisis de clústeres nos permitió conocer los términos de ontología genética más significativos, que se clasificaron según el valor del FDR o *p* corregido, por lo que eran más significativos cuanto menor era el valor obtenido. Entre los términos ontológicos, se destacan aquellos relacionados con los procesos biológicos de proliferación y muerte celular programada, de comunicación intercelular, del metabolismo proteico y de desarrollo del sistema cardiovascular. Estos hallazgos son coincidentes con la evidencia que muestra estos procesos como claves del desarrollo de alteraciones en órganos y tejidos. (9, 36) También hallamos que los genes identificados codifican proteínas que pueden hallarse en el compartimiento extracelular, lo que permitiría su utilización efectiva como biomarcadores, y que sus funciones moleculares están estrechamente relacionadas con factores de crecimiento y con estabilidad de ADN.

La principal fortaleza de este estudio fue el aprovechamiento de la información globalmente disponible, mediante el procesamiento y el análisis de los datos de diferentes niveles de información biológica. Además, empleamos métodos con análisis estadísticos con un alto grado de confiabilidad. Por otra parte, este análisis permite orientar estudios posteriores; esto reduce el tiempo y los recursos necesarios para la evaluación de biomarcadores y objetivos terapéuticos, lo que permite un abordaje mejor dirigido.

Sin embargo, existen ciertas limitaciones, ya que puede presentarse variabilidad poblacional en los resultados obtenidos, y es necesaria la evaluación experimental que corrobore nuestros hallazgos. A pesar de esto, la utilización de seis bases de datos para obtener inicialmente el conjunto de genes de cada fenotipo, sumado al uso de tres herramientas de distinta metodología para establecer las redes de interacción genética, asegura complementariedad entre ellas.

Por lo tanto, podemos concluir que los genes hallados en este estudio podrían ser de utilidad como biomarcadores putativos de la presencia de alteraciones cardiovasculares y metabólicas asociadas con la RCIU, o podrían ser de utilidad como potenciales blancos terapéuticos de estrategias de tratamiento orientadas al genotipo del paciente.

Criterios de autoría

IDAM: Obtención, análisis e interpretación de datos, redacción del artículo; DAS, AT, RE, CA: Interpretación de datos y revisión del artículo; CC: Diseño, interpretación de datos, redacción y revisión del artículo.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no poseen conflictos de intereses.

(Véase formulario de conflicto de intereses de los autores en la web / Material suplementario).

BIBLIOGRAFÍA

1. Armengaud JB, Yzydorczyk C, Siddeek B, Peyer AC, Simeoni U. Intrauterine growth restriction: clinical consequences on health and disease at adulthood. *Reprod Toxicol* 2020; 99:168-76. doi: 10.1016/j.reprotox.2020.10.005.
2. ACOG Practice Bulletin No. 204. *Obstet Gynecol* 2019;133: e97-e109. doi:10.1097/aog.00000000000003070
3. Fescina RH, De Mucio B, Martínez G, Alemán A, Sosa C, Mainero L, Rubino M. Vigilancia del crecimiento fetal: manual de autoinstrucción. 2 ed. Montevideo: CLAP/SMR; 2013. (CLAP/SMR. Publicación científica; 1586).
4. Unterscheider J, Daly S, Geary MP, Dicker P, Tully EC, Malone FD. Optimizing the definition of intrauterine growth restriction: the multicenter prospective PORTO Study. *Res Obstetr 2013*; 208:290. e1-290.e6. doi: 10.1016/j.ajog.2013.02.007
5. Menéndez-Castro C, Rascher W, Hartner A. Intrauterine growth restriction - impact on cardiovascular diseases later in life. *Mol Cell Pediatr* 2018;5:4. doi: 10.1186/s40348-018-0082-5.
6. Crispi F, Miranda J, Gratacos E. Long-term cardiovascular consequences of fetal growth restriction: biology, clinical implications, and opportunities for prevention of adult disease. *Am J Obstet Gynecol* 2018;218(2S):S869-S79. doi: 10.1016/j.ajog.2017.12.012.
7. Barker DJ, Osmond C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet* 1986;1(8489):1077-81. doi: 10.1016/s0140-6736(86)91340-1.
8. Barker DJ. The developmental origins of adult disease. *J Am Coll Nutr* 2004;23(6 Suppl):588S-95S. doi: 10.1080/07315724.2004.10719428.
9. Tomat AL, Veiras LC, Aguirre S, Fasoli H, Elesgaray R, Caniffi C, et al. Mild zinc deficiency in male and female rats: early postnatal alterations in renal nitric oxide system and morphology. *Nutrition* 2013;29:568-73. doi: 10.1016/j.nut.2012.09.008.
10. Nyrnes SA, Garnæs KK, Salvesen Ø, Timilsina AS, Moholdt T, Ingul CB. Cardiac function in newborns of obese women and the effect of exercise during pregnancy. A randomized controlled trial. *PLoS One* 2018;13:e0197334. doi: 10.1371/journal.pone.0197334.
11. Van De Maele K, Devlieger R, Gies I. In utero programming and early detection of cardiovascular disease in the offspring of mothers with obesity. *Atherosclerosis* 2018;275:182-95. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.06.016.
12. Devaskar SU, Chu A. Intrauterine Growth Restriction: Hungry for an Answer. *Physiology (Bethesda)* 2016;31:131-46. doi: 10.1152/physiol.00033.2015.
13. Fall CHD. Fetal programming and the risk of noncommunicable disease. *Indian J Pediatr* 2013;80 Suppl 1:S13-20. doi: 10.1007/s12098-012-0834-5.
14. Briffa JF, Wlodek ME, Moritz KM. Transgenerational programming of nephron deficits and hypertension. *Semin Cell Dev Biol* 2020;103:94-103. doi: 10.1016/j.semcd.2018.05.025.
15. Cuarta Encuesta Nacional de Factores de Riesgo para Enfermedades no Transmisibles. Ministerio de Salud y Desarrollo Social de la Nación Argentina. 2019.
16. Amihăescu IC, Chelaru L. Metabolic syndrome a widespread threatening condition; risk factors, diagnostic criteria, therapeutic options, prevention and controversies: an overview. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2014;118:896-900.
17. Landrum MJ, Lee JM, Benson M, Brown GR, Chao C, Chitipiralla S, et al. ClinVar: improving access to variant interpretations and supporting evidence. *Nucleic Acids Res* 2018;46:D1062-7, doi:10.1093/nar/gkx1153
18. Pinero J, Queralt-Rosinach N, Bravo À, Deu-Pons J, Bauer-Mehren A, Baron M, Sanz F, et al. DisGeNET: a discovery platform for the dynamical exploration of human diseases and their genes. *Database (Oxford)* 2015;2015:bav028. doi:10.1093/database/bav028
19. Buniello A, MacArthur JAL, Cerezo M, Harris LW, Hayhurst J, Malangone C, et al. The NHGRI-EBI GWAS Catalog of published genome-wide association studies, targeted arrays and summary statistics 2019. *Nucleic Acids Res* 2019;47: D1005-12, doi:10.1093/nar/gky1120
20. Mattingly CJ, Colby GT, Forrest JN, Boyer JL. The Comparative Toxicogenomics Database (CTD). *Environ Health Perspect* 2003;111:793-5, doi:10.1289/ehp.6028
21. Szklarczyk D, et al. STRING v10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life. *Nucleic Acids Res* 2015;43:D447-52, doi:10.1093/nar/gku1003
22. Kamburov A, Pentchev K, Galicka H, Wierling C, Lehrach H, Herwig R, et al. Consensus PathDB: toward a more complete picture of cell biology. *Nucleic Acids Res* 2011;39:D712-7, doi:10.1093/nar/gkq1156
23. Warde-Farley D, Donaldson SL, Comes O, Zuberi K, Badrawi R, Chao P, et al. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function. *Nucleic Acids Res* 2010;38:W214-20, doi:10.1093/nar/gkq537
24. Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res* 2003;13:2498-504, doi:10.1101/gr.1239303.
25. Pavlopoulos GA, Secrier M, Moschopoulos CN, Soldatos TG, Kossida S, Aerts J, et al. Using graph theory to analyze biological networks. *BioData Min* 2011;4:10. doi:10.1186/1756-0381-4-10.
26. Xiong W, Xie L, Zhou S, Liu H, Guan J. The centrality of cancer proteins in human protein-protein interaction network: a revisit. *Int J Comput Biol Drug Des* 2014;7:146-56. doi:10.1504/IJCBDD.2014.061643
27. Uhlén M, Fagerberg L, Hallström BM, Lindskog C, Oksvold P, Mardinoglu A, et al. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science* 2015;347:1260419, doi:10.1126/science.1260419.
28. Bader GD, Hogue CW. An automated method for finding molecular complexes in large protein interaction networks. *BMC Bioinformatics* 2003;4:2. doi:10.1186/1471-2105-4-2.
29. Raudvere U, Kolberg L, Kuzmin I, Arak T, Adler P, Peterson H, Vilo J, et al. g:Profiler: a web server for functional enrichment analysis and conversions of gene lists (2019 update). *Nucleic Acids Res* 2019;47:W191-W198, doi:10.1093/nar/gkz369.
30. Supek F, Bosnjak M, Skunca N, Smuc T. REViGO summarizes and visualizes long lists of gene ontology terms. *PloS One* 2011; 6:e21800. doi:10.1371/journal.pone.0021800
31. Clemmons DR. Involvement of insulin-like growth factor-I in the control of glucose homeostasis. *Curr Opin Pharmacol* 2006;6:620-5. doi: 10.1016/j.coph.2006.08.006.
32. Aguirre GA, Rodríguez De Ita J, de la Garza RG, Castilla-Cortazar I. Insulin-like growth factor-1 deficiency and metabolic syndrome. *J Transl Med* 2016;14:3. doi: 10.1186/s12967-015-0762-z.
33. Hoogeboom D, Burgering BM. Should I stay or should I go: beta-catenin decides under stress. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1796:63-74. doi: 10.1016/j.bbcan.2009.02.002.
34. Lee SH, Kim B, Oh MJ, Yoon J, Kim HY, Lee KJ, Lee JD, Choi KY. Persicaria hydropiper (L.) Spach and its Flavonoid Components, Isoquercitrin and Isorhamnetin, Activate the Wnt/β-catenin Pathway and Inhibit Adipocyte Differentiation of 3T3-L1 Cells. *Phytother Res* 2011;25:1629-35. doi: 10.1002/ptr.3469
35. Campos-Peña V, Toral-Ríos D, Becerril-Pérez F, Sánchez-Torres C, Delgado-Namorado Y, Torres-Ossorio E, et al. Metabolic Syndrome as a Risk Factor for Alzheimer's Disease: Is Aβ a Crucial Factor in Both Pathologies? *Antioxid Redox Sign* 2017;26:542-60. doi: 10.1089/ars.2016.6768.
36. Cañas D, Herrera EA, García-Herrera C, Celentano D, Krause BJ. Fetal Growth Restriction Induces Heterogeneous Effects on Vascular Biomechanical and Functional Properties in Guinea Pigs (*Cavia porcellus*). *Front Physiol* 2017;8:144. doi: 10.3389/fphys.2017.00144.