



## Poblaciones de linfocitos y preeclampsia

Luz Ma Adriana Balderas Peña,\* Carlos Vidal Vizcaíno Magaña,\*\* Salvador Hernández Higareda,\*\*\*  
Cecilia Vargas Guillén,<sup>1</sup> Fernando Álvarez Romo,\*\*\*\* Trinidad García Iglesias,<sup>1</sup> Susana del Toro Arreola,<sup>1</sup>  
Adrián Daneri Navarro<sup>2</sup>

Nivel de evidencia: II-3

### RESUMEN

**Antecedentes:** el origen de la preeclampsia ha permanecido sin una explicación contundente. Como parte de su etiopatogenia se propone la existencia de alteraciones inmunológicas. En este trabajo se exploran diversas subpoblaciones de linfocitos y se plantean los probables mecanismos implicados en la pérdida de la tolerancia inmunológica durante este padecimiento.

**Objetivo:** comparar las poblaciones de células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, linfocitos (TCD8<sup>+</sup> y CD4<sup>+</sup>) y células NK de pacientes con preeclampsia con las de pacientes con embarazo de evolución normal.

**Pacientes y método:** en ambos grupos de pacientes se obtuvieron células mononucleares de sangre periférica mediante anticuerpos marcados para citometría de flujo. Se identificaron células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, linfocitos T (CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>) y células NK. Se calcularon los promedios y la desviación estándar. Se realizó la prueba de la *t* de Student para diferencias entre grupos y la correlación de Pearson entre la tensión arterial media y las subpoblaciones celulares. Se consideró significativa una *p* menor de 0.05.

**Resultados:** el porcentaje de células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> fue menor en las pacientes con preeclampsia (2.7 vs 6.1%; *p* < 0.002), el de las células CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> también mostró tendencia a ser menor (22.11 vs 33.86; *p* NS). Se observó una correlación negativa entre las cifras de tensión arterial media y el porcentaje de células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> (*rp* - 0.666; *p* < 0.001), y la expresión de CD25 en los linfocitos T CD4<sup>+</sup> (*rp* - 0.526; *p* < 0.025).

**Conclusiones:** los datos obtenidos sugieren que las células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> y CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> tendrían una función importante en la aparición de la preeclampsia, en virtud de la asociación entre las cifras de tensión arterial media y la distribución de estas dos subpoblaciones de linfocitos.

**Palabras clave:** preeclampsia, células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, células NK.

### ABSTRACT

**Background:** Preeclampsia origin has no conclusive explanation. As part of its etiology it has been proposed immunologic disorders. This work explores several lymphocytes subsets and postulates possible mechanisms involved in a lost of immune tolerance in this entity.

**Objective:** To compare cellular populations of CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, T lymphocytes (CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>) and NK cells subsets in preeclamptic and pregnant healthy women.

**Patients and methods:** Through flow cytometry antibodies, peripheral blood mononuclear cells were obtained from both groups of patients. CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, T lymphocytes (CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>) and NK cells were identified. Mean and standard deviation, Student *t* test and Pearson correlation were calculated to analyze differences between groups and correlation between mean blood pressure and different lymphocytes subsets; *p* < 0.05 was considered significant.

**Results:** CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> cells percentage was lower in preeclamptic patients (2.7 vs 6.1%; *p* < 0.002), CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> cells percentage tend to be lower too (22.11 vs 33.86; *p* = NS). Mean blood pressure shown negative correlation with CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> cells percentage (*rp* - 0.666; *p* = 0.001) and with CD25 on CD4<sup>+</sup> T lymphocytes surface (*rp* - 0.526; *p* < 0.025).

**Conclusions:** Based on the association between mean blood pressure and lymphocytes percentage for these two cellular subsets, data obtained suggest that CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> cells play an important role in preeclampsia development.

**Key words:** preeclampsia, CD3<sup>+</sup> CD56, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, NK cells.

### RÉSUMÉ

**Antécédents:** l'origine de la pré-éclampsie est restée sans une explication contondante. Comme faisant partie de son étiopathogénie on propose l'existence d'altérations immunologiques. Dans ce travail s'explorent diverses sous populations de lymphocytes et se proposent les mécanismes probables concernés dans la perte de la tolérance immunologique de cette souffrance.

**Objectif:** comparer les populations de cellules CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, lymphocytes (T CD8<sup>+</sup> et CD4<sup>+</sup>) et cellules NK de patientes avec pré-éclampsie avec celles des patientes avec grossesse d'évolution normale.

**Patients et méthode:** dans les deux groupes de patientes on a obtenu des cellules mononucléaires de sang périphérique au moyen d'anticorps marqués par cytométrie en flux. On a identifié des cellules CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, lymphocytes T (CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup>) et cellules NK. On a calculé les moyennes et la déviation standard. On a réalisé le test du *t* de Student pour différences entre groupes et la corrélation

de Pearson entre la presión arterial promedio y las sub poblaciones celulares. On a considéré significatif un  $p < 0.05$ .

**Résultats:** le pourcentage de cellules CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> a été inférieur chez les patientes avec pré-éclampsie (2.7 vs 6.1%;  $p < 0.002$ ), celui des cellules CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> a montré aussi tendance à être inférieur (22.11 vs 33.86 ;  $p$  NS). On a observé une corrélation négative entre les chiffres de pression artérielle moyenne avec le pourcentage de cellules CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> ( $rp -0.666$ ;  $p < 0.001$ ), et l'expression de CD25<sup>+</sup> dans les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> ( $rp -0.526$ ;  $p < 0.025$ ).

**Conclusions:** les données obtenues suggèrent que les cellules CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> et CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> pourraient jouer un rôle important dans l'apparition de la pré-éclampsie, du fait de l'association entre les chiffres de pression artérielle moyenne et la distribution de ces deux sous populations de lymphocytes.

**Mots-clés:** pré-éclampsie, cellules CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, cellules NK.

## RESUMO

**Antecedentes:** A origem da pré-eclâmpsia permanece sem nenhuma explicação contundente. Como parte de sua etiopatogenia propõe-se a existência de alterações imunológicas. Em este trabalho explora-se diversas sub-populações de linfócitos e enfocam os prováveis mecanismos implicados na perda de tolerância imunológica neste padecimento.

**Objetivo:** Comparar as populações de células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, linfócitos (T CD8<sup>+</sup> e CD4<sup>+</sup>) e células NK de pacientes com pré-eclâmpsia com as de pacientes com gravidez de evolução normal.

**Pacientes e método:** Em ambos os grupos de pacientes obtiveram células mononucleares de sangue periférico mediante anticorpos marcados para citometria de fluxo. Foram identificadas células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>, DC4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, linfócitos T (CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup>) e células NK. Foram calculados os promédios e o desvio estándar. Também se realizou a prova da *t* de Student para diferenças entre grupos e a correlação de Pearson entre a pressão arterial média e as sub-populações celulares. Considerou-se significativa uma  $p < 0,05$ .

**Resultados:** A porcentagem de células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> foi menor em pacientes com pré-eclâmpsia (2,7 vs 6,1%;  $p < 0,002$ ), o das células CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> também mostrou tendência a ser menor (22,11 vs 33,86;  $p$  NS). Observou-se uma correlação negativa entre a cifras de pressão arterial média com a porcentagem de células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> ( $rp -0,666$ ;  $p < 0,001$ ), e a expressão de CD25 nos linfócitos T CD4<sup>+</sup> ( $rp -0,526$ ;  $p < 0,025$ ).

**Conclusões:** O dados obtidos sugerem que as células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> e CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> pudessem desempenhar um papel importante na aparição da pré-eclâmpsia, em virtude da associação entre as cifras de pressão arterial média e a distribuição destas duas sub-populações de linfócitos.

**Palavras-chave:** Gravidez, laparotomia exploradora, indometacina, progesterona, teratoma maduro bilateral.

\* Investigador Asociado A. Médica ginecoobstetra. Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Clínica. UMAE Hospital de Especialidades.

\*\* Médico ginecoobstetra.

\*\*\* Médico ginecoobstetra, jefe de la División de Medicina Perinatal. UMAE Hospital de Ginecoobstetricia.

Centro Médico Nacional de Occidente, IMSS.

\*\*\*\* Médico adscrito al Departamento de ginecoobstetricia, Hospital General Regional Dr. Antonio Ayala Ríos núm. 45, IMSS.

<sup>1</sup> Profesor investigador titular A.

<sup>2</sup> Profesor investigador titular C. Laboratorio de Inmunología. Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Universidad de Guadalajara.

Correspondencia: Dra. Luz Ma Adriana Balderas Peña. Dirección de Prestaciones Médicas, Centro Médico Nacional de Occidente, UMAE, Hospital de Especialidades, Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Clínica. Belisario Domínguez núm. 1000, colonia Independencia, CP 44340, Guadalajara, Jalisco, México. E-mail: luz.balderas@cucs.udg.mx

Recibido: agosto, 2007. Aceptado: abril, 2008.

Este artículo debe citarse como: Balderas PLMA, Vizcaíno MCV, Hernández HS, Vargas GC y col. Poblaciones de linfocitos y preeclampsia. Ginecol Obstet Mex 2008;76(6):327-35.

La versión completa de este artículo también está disponible en: [www.revistasmedicasmexicanas.com.mx](http://www.revistasmedicasmexicanas.com.mx)

La hipertensión es un trastorno médico común durante el embarazo, en 70% de los casos este síntoma se asocia con el síndrome de hipertensión gestacional-preeclampsia.<sup>1</sup> Este padecimiento incrementa la morbilidad y mortalidad materna y perinatal.<sup>1-4</sup> La incidencia anual en México es de 5 a 10% y es la responsable de 34% de las muertes maternas<sup>5-7</sup> y afecta, predominantemente, a mujeres entre 15 y 25 años de edad.<sup>8</sup> También se le denomina “la enfermedad de las teorías” debido a que su origen ha permanecido sin una explicación contundente a través de varias décadas.<sup>9</sup>

Los síntomas de este síndrome aparecen durante la segunda mitad del embarazo y el origen quizá esté relacionado con un trastorno de la placentación. Durante la primera mitad del embarazo tienen lugar dos oleadas de invasión trofoblástica hacia la capa muscular de las arterias espirales y el miometrio que, en la preeclampsia, debido a la invasión superficial (deficiente) de células derivadas del trofoblasto, condiciona la disminución del flujo sanguíneo uteroplacentario, secundario a vasoconstricción de las arterias espirales, con la consecuente isquemia del lecho placentario durante el segundo y tercer trimestres de la gestación.<sup>4</sup>

Las interacciones inmunológicas en la interfase materno-fetal (decidua-trofoblasto) tienen influencia importante en la biología de la implantación y los mecanismos de tolerancia al feto semialoinjerto. El embrión implantado y la decidua materna poseen características inmunológicas especiales que permiten el desarrollo embrionario a través de la invasión de las células derivadas del citotrofoblasto hacia los tejidos maternos.<sup>10</sup>

Algunos de los posibles mecanismos moduladores de la tolerancia inmunológica durante el embarazo normal son: 1) equilibrio entre citocinas Th1/Th2<sup>10</sup> (proinflamatorias-antiinflamatorias); 2) expresión de moléculas no clásicas del complejo principal de histocompatibilidad: HLA-E, HLA-G;<sup>11</sup> 3) alteraciones en el metabolismo del triptófano a través de la indolamina 2,3 dioxigenasa (2,3 IDO);<sup>11,12</sup> 4) linfocitos T reguladores (Treg CD4+CD25+FoxP3+);<sup>13</sup> y 5) células NKT.<sup>14,15</sup> La pérdida de uno o varios de estos mecanismos de tolerancia al semialoinjerto fetal puede estar implicada en la génesis de la preeclampsia.

Se han estudiado los mecanismos de la preeclampsia relacionados con la expresión de HLA-G en tejido placentario,<sup>11</sup> y la función de los linfocitos T reguladores,<sup>13</sup> así como la distribución de otras poblaciones celulares en la decidua,<sup>10</sup> sin embargo, hasta el momento en ninguno de los reportes se ha estudiado de forma sistemática el comportamiento de las diferentes subpoblaciones celulares en su conjunto.

En este trabajo se exploran las posibles modificaciones en el porcentaje de linfocitos TCD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, células NK y CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> en sangre periférica, y se plantean los probables mecanismos implicados en la pérdida de la tolerancia inmunológica en la preeclampsia.

## OBJETIVO

Comparar las poblaciones de células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, linfocitos (T CD8<sup>+</sup> y CD4<sup>+</sup>) y células NK de pacientes con preeclampsia y con embarazo de evolución normal.

## PACIENTES Y MÉTODO

Las pacientes con diagnóstico de preeclampsia se seleccionaron del servicio de medicina perinatal del Hospital de Ginecoobstetricia del Centro Médico Nacional de Occidente, IMSS, donde se registraron sus datos clínicos (edad gestacional, peso del recién nacido), biometría

hemática completa y parámetros hemodinámicos (tensión arterial sistólica, diastólica y media), previos a la interrupción del embarazo. Las pacientes con embarazo normal se seleccionaron en el grupo de las programadas para cesárea por antecedente de cesárea previa, o bien por presentación pélvica del feto. En ambos casos se verificó que no estuvieran en trabajo de parto. El proyecto fue aprobado por los comités de ética e investigación del Hospital de Ginecoobstetricia del Centro Médico Nacional de Occidente. Se solicitó a las pacientes que leyeran y firmaran el consentimiento, donde se daba toda la información correspondiente para participar en un estudio de investigación, en presencia y con firma de dos testigos. En todo momento se guardó la confidencialidad de los datos personales.

## Obtención y separación de células mononucleares de sangre periférica

En el periodo preoperatorio se extrajeron 10 mL de sangre venosa periférica de cada paciente, de donde se obtuvieron las células mononucleares, a través de un proceso de centrifugación, mediante gradiente de densidad [Lympho-prep (Nycomed USA densidad de 1.077)], a partir de lo cual se obtuvo el anillo formado por estas células. Al paquete celular se le hicieron dos lavados con 10 mL de PBS a 350 x g, durante 10 minutos a temperatura ambiente. Una vez obtenido el botón celular se resuspendió en 1 mL de PBS (pH 7.2), se contaron las células y se determinó el porcentaje de viabilidad. Se ajustaron a una concentración de 1 x 10<sup>6</sup> en cada tubo y se trabajó el marcaje para citometría de flujo en microtubos de 1.5 mL.

## Evaluación de las subpoblaciones de linfocitos mediante citometría de flujo

Se efectuó el marcaje directo de las células con anticuerpos monoclonales (Immunotech Beckman Coulter USA) conjugados con los siguientes fluorocromos: anti-CD3-FITC, anti-CD8-PE, anti-CD4-PCy5, anti-CD56-PE, anti-CD16-PCy5, anti-CD25-PE. Después de la incubación con los anticuerpos se fijaron las células con 500 microlitros de solución de formaldehído al 0.5% y se almacenaron a 4°C protegidas de la luz hasta su lectura en el citómetro de flujo. Todos los anticuerpos monoclonales utilizados fueron de ratón antihumano de isotipo IgG1, a excepción del anticuerpo contra CD25 y su isotipo correspondiente, que fueron IgG2a.

### Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS 10.0. Se calcularon promedios y desviaciones estándar para los valores porcentuales de las poblaciones de linfocitos T CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>, células NK (CD56<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup>) y CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>; así como la intensidad de fluorescencia media de las células CD4<sup>+</sup> que expresan CD25<sup>+</sup>. Para evaluar las diferencias entre las pacientes con preeclampsia y quienes cursaban con embarazo normal se utilizó la prueba de la *t* de Student para muestras independientes. Se realizó la correlación de Pearson para analizar la asociación entre las cifras de tensión arterial media y la distribución porcentual de las diferentes subpoblaciones de linfocitos. También se analizó la relación entre células NK y linfocitos T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> y células CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>; así como la expresión de CD25 sobre los linfocitos T CD4<sup>+</sup>. Se consideró significativa para todas las pruebas una *p* menor de 0.05.

## RESULTADOS

### Características clínicas y de laboratorio

Se estudiaron diez pacientes con embarazo normal y diez con embarazo complicado por preeclampsia. No se encontraron diferencias en la edad promedio de ambos grupos ni en el recuento de leucocitos totales y de plaquetas (*p* NS). Se encontraron diferencias significativas entre la edad gestacional, el peso de los recién nacidos y las cifras de tensión arterial media (*p* < 0.05), situación determinada por las características clínicas e historia natural de la preeclampsia al compararse con los embarazos de curso clínico normal (cuadro 1).

### Distribución de poblaciones celulares

El porcentaje de células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> fue menor en las pacientes con preeclampsia, respecto de las pacientes con embarazo normal (promedio: 2.7% vs 6.1%; *p* < 0.002). La distribución porcentual de las células CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> mostró tendencia a ser menor en las pacientes con preeclampsia (22.11 vs 33.86; *p* NS). Tampoco se observó una diferencia significativa en la distribución de los linfocitos TCD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> y células NK (figura 1, cuadro 2).

### Análisis de correlación entre la tensión arterial media y las subpoblaciones de linfocitos

Al analizar la asociación entre la tensión arterial media con la distribución de las células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> y la expresión del marcador de superficie CD25, se observó una correlación negativa entre el aumento en las cifras de tensión arterial media y la disminución en el porcentaje de células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> (rP - 0.666; *p* = 0.001), y en la expresión del antígeno de superficie CD25 en los linfocitos T CD4<sup>+</sup> (rP - 0.526; *p* = 0.025; figura 2, especialmente a y b). Cuando se evaluó la asociación entre las diferentes poblaciones celulares se observó una correlación positiva entre el aumento en los porcentajes de las células NK y linfocitos T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> (rp 0.525; *p* = 0.025), así como en la elevación del porcentaje de células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> y la expresión de CD25 sobre la superficie de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> (rP 0.586; *p* = 0.011).

## COMENTARIO

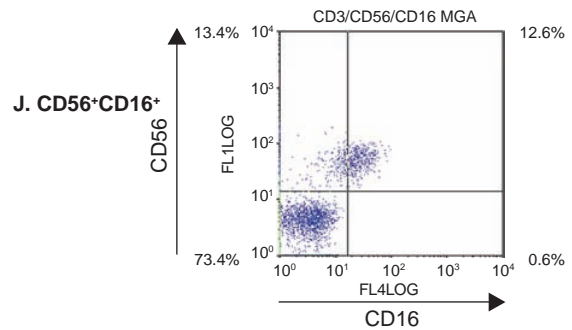
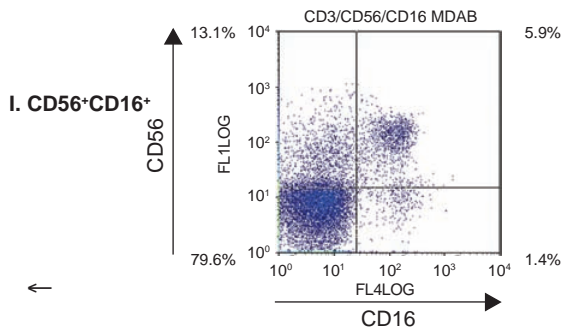
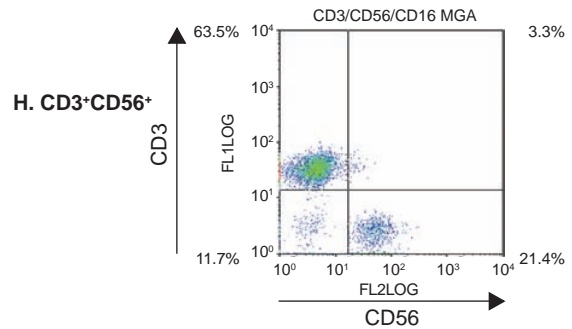
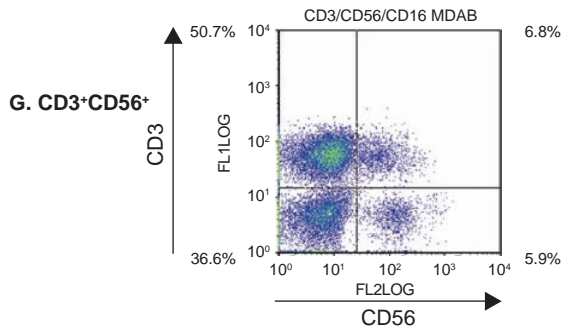
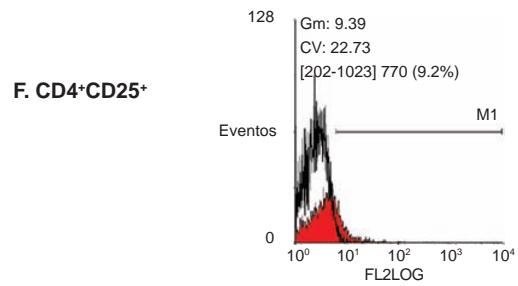
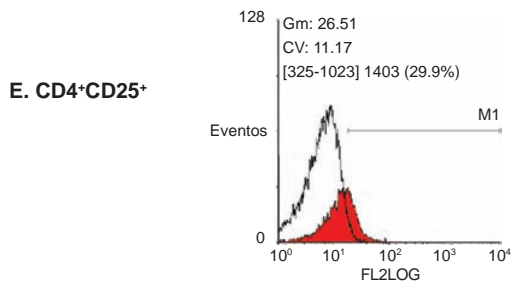
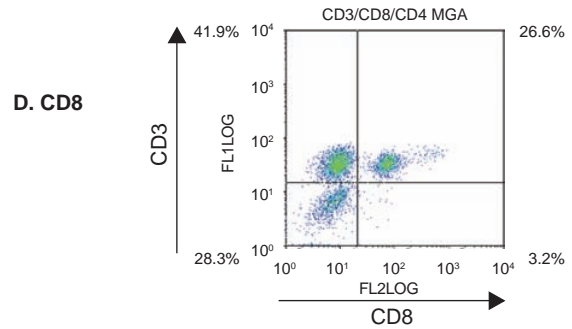
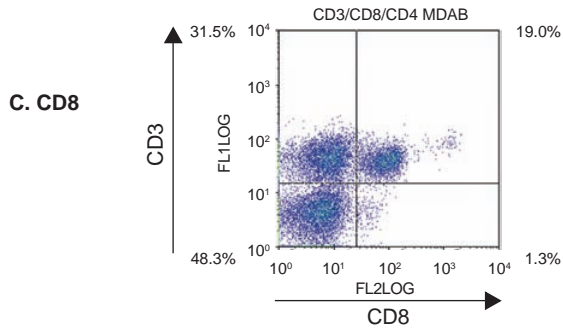
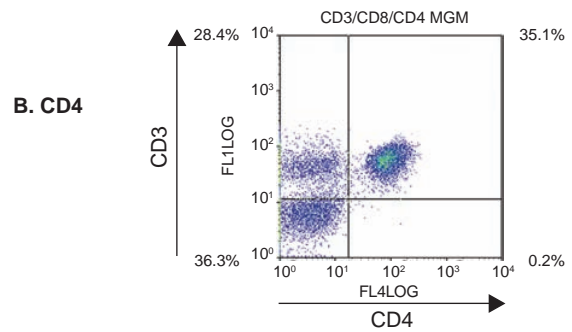
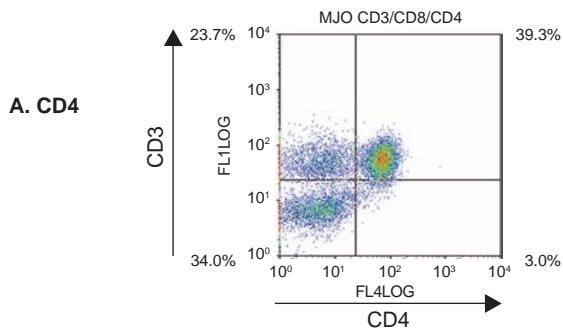
Hasta el momento no se cuenta con demostraciones contundentes de los factores etiopatogénicos implicados en

**Cuadro 1.** Variables clínicas y bioquímicas de las pacientes con preeclampsia y con embarazo normal

Variable	Pacientes con embarazo normal	Pacientes con preeclampsia	<i>p</i> *
	Promedio (DE)	Promedio (DE)	
Edad (años)	27.27 (4.47)	27.9 (4.86)	0.762
Edad gestacional (semanas)	39.11 (1.17)	35.5 (1.78)	0.000*
Peso del recién nacido (g)	3461.36 (185.53)	2397 (408.44)	0.000*
Tensión arterial media	79.37 (5.74)	120.33 (16.18)	0.000*
Leucocitos totales	7 919 (2,940.27)	10 303 (3,017.59)	0.091
Plaquetas	182,545.45 (22 958)	171,222.22 (41,102.8)	0.446

\* *t* de Student para muestras independientes (*p* = 0.05).

**Figura 1.** (Página 331) Distribución de las poblaciones de linfocitos. A. Embarazadas sanas. B. Preeclámplicas. C. Embarazo normal. D. Preeclámplicas. E. Grupo control. F. Preeclámplicas. G. Embarazo normal. H. Preeclámplicas. I. Embarazo normal. J. Preeclámplicas.

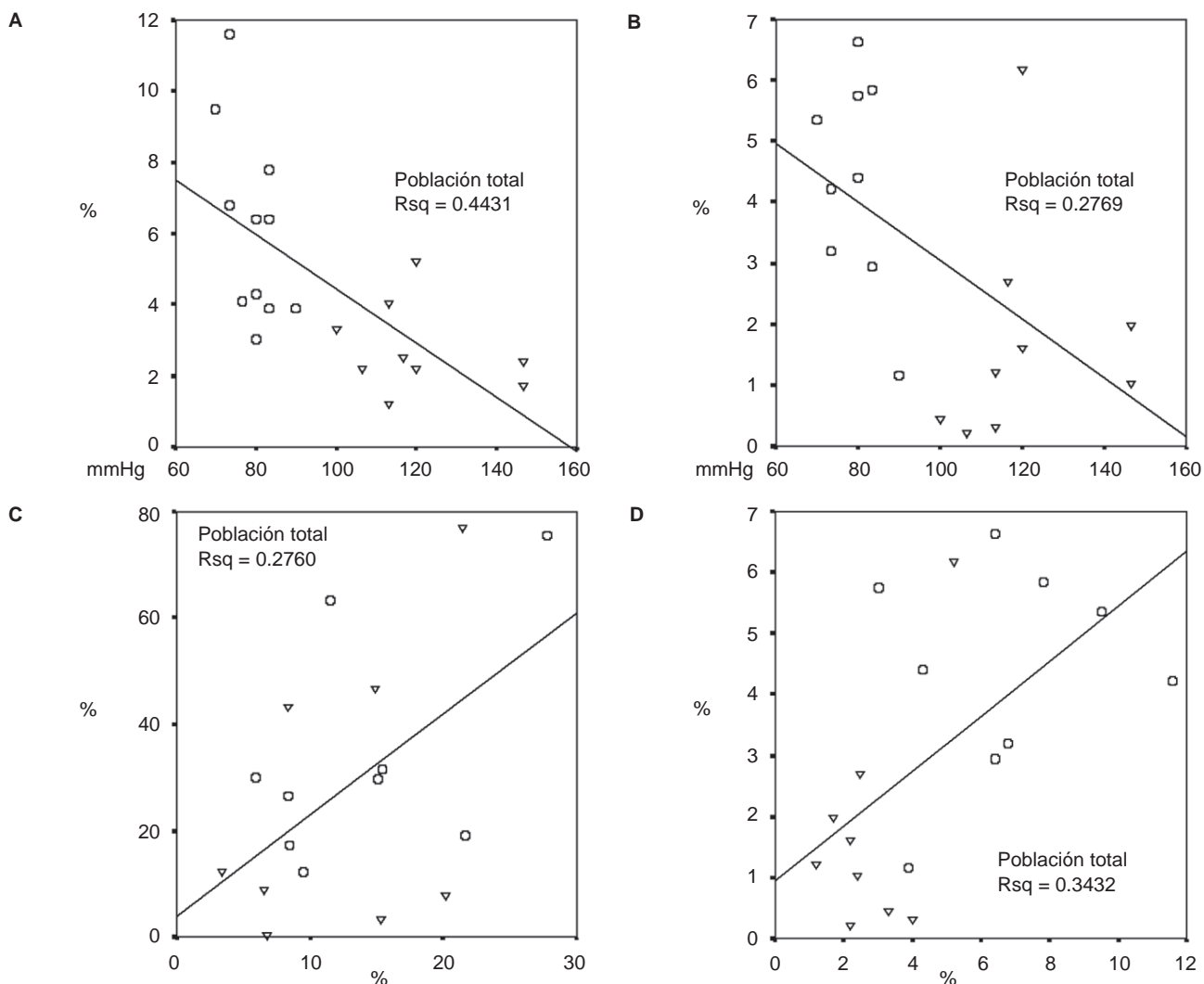




**Cuadro 2.** Distribución de poblaciones celulares en ambos grupos de pacientes

Variable	Pacientes con embarazo normal Promedio (DE)	Pacientes con preeclampsia Promedio (DE)	$p^*$
CD4	37.72 (7.6)	36.31 (9.19)	0.710
CD8	22.4 (7.4)	22.2 (7.8)	0.957
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> (%)	33.86 (21.39)	22.11 (26.97)	0.321
CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> (IFM)	4.38 (1.73)	1.73 (1.8)	0.006*
CD3 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup>	6.1 (2.6)	2.7 (1.2)	0.002*
CD56 <sup>dim</sup> CD16 <sup>bright</sup>	12.6 (6.9)	11.1 (7.9)	0.614

\*  $t$  de Student para muestras independientes ( $p = 0.05$ ).



**Figura 2.** Correlación entre la tensión arterial media y las subpoblaciones de linfocitos ( $\nabla$  preeclampsia,  $\circ$  embarazo normal). A. Porcentaje de linfocitos CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> vs tensión arterial media (mmHg). B. Expresión de CD25 en linfocitos T CD4<sup>+</sup> vs tensión arterial media (mmHg). C. Porcentaje de linfocitos CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> vs porcentaje de células NK. D. Expresión de CD25 en linfocitos T CD4<sup>+</sup> vs porcentaje de linfocitos CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>.

la preeclampsia. En fechas recientes ha cobrado cada vez mayor importancia la función del sistema inmunológico y la pérdida de la tolerancia materna ante el semialoinjerto fetal como fenómeno clave en la aparición de la preeclampsia.

En nuestros hallazgos reportamos por primera vez el estudio simultáneo de las subpoblaciones celulares CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> y CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> positivas, las cuales en estudios previos se propusieron como elementos celulares con funciones inmunomoduladoras importantes por su capacidad de secretar citocinas (IL-4, INF- $\gamma$ , TG- $\beta$ ) en condiciones fisiológicas, como por la mediación de la tolerancia inmunológica en el embarazo normal. Se analiza también la asociación de las diferentes subpoblaciones celulares, entre ellas (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> y células NK) y con las cifras de tensión arterial media.

En los resultados expuestos se observó un porcentaje significativamente menor de células CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> en las pacientes con preeclampsia (promedio 2.7 vs 6.1;  $p < 0.05$ ). Esta población de células dobles positivas podría corresponder a células NKT.<sup>16</sup> Estas células representan una pequeña subpoblación de linfocitos y se ha propuesto que podrían tener una función inmunomoduladora en el embarazo normal.<sup>15</sup> Desde el punto de vista de su fenotipo están entre las células que expresan los marcadores de superficie CD3<sup>+</sup> (propio de los linfocitos T) y CD56<sup>+</sup> (típico de las células NK),<sup>17</sup> con concentraciones elevadas de producción de citocinas, particularmente IL-4 e INF  $\gamma$ , implicadas en la génesis de las respuestas Th2.<sup>18,19</sup>

La población de NKT<sup>11-13</sup> aumenta conforme evoluciona el embarazo y su número disminuye en el embarazo tardío, hallazgos que sugieren que esta reducción en la cantidad de NKT durante el embarazo tardío podría ser importante en el mantenimiento del mismo.<sup>20</sup>

En la actualidad, la información disponible apoya que durante el embarazo humano<sup>21</sup> las NKT se encuentran en mayor proporción que en mujeres no embarazadas y que en pacientes con preeclampsia,<sup>22-25</sup> donde predomina un ambiente rico en citocinas proinflamatorias, como TNF alfa.<sup>21</sup> Esta situación sugiere la participación de las células NKT en la pérdida de la tolerancia inmunológica en la preeclampsia.

En nuestros resultados se muestra la asociación entre el porcentaje de células NKT y las cifras de tensión arterial media (rP - 0.666;  $p < 0.001$ ) y de estas células con la expresión de CD25 en los linfocitos T CD4<sup>+</sup> (rP 0.586;  $p < 0.011$ ).

De igual forma, se observó que las células CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> en sangre periférica representaron 33.8% en mujeres con embarazo normal y 22.4% en pacientes con preeclampsia, lo que muestra una tendencia a la disminución en el porcentaje de estas células en la población de pacientes con preeclampsia ( $p$  NS). Cuando se comparan estos porcentajes con el reporte de Somerset y su grupo (4.4% en mujeres no embarazadas y 8.9% en mujeres con embarazo normal),<sup>13</sup> los porcentajes encontrados en las muestras estudiadas por nuestro grupo fueron significativamente más elevados, lo que puede deberse a la existencia de linfocitos T activados a través de citocinas y a que los métodos utilizados para identificar a esta población celular (Somerset: identificación del factor transcripcional FoxP3;<sup>13</sup> Paeschke: determinación de CTLA4<sup>18</sup>) en los diferentes reportes no se encuentran homogeneizados.

Los estudios de las Treg han formulado teorías acerca de que estas células pueden tener una función en las modificaciones de la respuesta inmunitaria materna ante el aloinjerto fetoplacentario durante el embarazo. El incremento en las Treg circulantes durante el embarazo temprano y el pico durante el segundo trimestre (cuando la invasión del trofoblasto llega a su máxima capacidad) apoyan esta teoría relacionada con la actividad inhibidora e inducción de la tolerancia materna al feto.<sup>25</sup>

De manera similar a lo encontrado en el presente estudio, el de Paeschke S y sus colaboradores<sup>18</sup> no muestra diferencias significativas entre las pacientes con embarazo de curso clínico normal y las afectadas por preeclampsia, entre los porcentajes de Treg (identificadas mediante el marcador de superficie CTLA4), ni entre otras subpoblaciones celulares, como: CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CTLA4<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>bright</sup> CD4<sup>+</sup>CTLA4, CD25<sup>+</sup>CTLA4, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CTLA4, CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>CTLA4 o CD8<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CTLA4; sin embargo, en los datos de este reporte, que revisa la relación de los hallazgos clínicos con los marcadores inmunológicos, el aumento en las cifras de la tensión arterial media se encontró relacionado con disminución notoria en la expresión de CD25 en los linfocitos T CD4<sup>+</sup> (rp - 0.526 <  $p$  0.025), lo que quizá sugiera que este decremento en la expresión pudiera relacionarse con la pérdida de la tolerancia inmunológica en la preeclampsia.

A pesar de contar con un tamaño de muestra limitado, este reporte permite sentar las bases para proponer un estudio donde se evalúen, en un grupo mayor de mujeres

mexicanas embarazadas con y sin preeclampsia, los porcentajes de células Treg (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> FoxP3<sup>+</sup>) y NKT, con la finalidad de analizar si las modificaciones en estas subpoblaciones de linfocitos pueden ser un marcador de gravedad de la preeclampsia o sólo son datos observados por efecto del azar. Esto permitirá precisar la importancia que tienen los linfocitos del sistema inmunológico celular en el mantenimiento de la tolerancia inmunológica al feto semialoinjerto y qué mecanismos se alteran en la preeclampsia.

## CONCLUSIONES

Los datos aquí presentados sugieren, que las células NKT y Treg pudieran desempeñar una función importante en la aparición de la preeclampsia, tal como lo sugiere la asociación entre las cifras de tensión arterial media y la distribución de estas dos subpoblaciones de linfocitos. Es importante realizar estudios con más pacientes para poder evaluar no sólo estas poblaciones celulares, sino también otras poblaciones de linfocitos y moléculas relacionadas con la pérdida de la tolerancia inmunológica que pudiera tener participación en la génesis de la preeclampsia. Estas poblaciones y moléculas, al poder determinarse en sangre periférica, podrían ser marcadores que permitan identificar de forma temprana a las pacientes con factores de riesgo, a quienes tengan una falla potencial en los mecanismos de tolerancia inmunológica al feto que las pudiera predisponer a la preeclampsia.

## Reconocimientos

Este proyecto se realizó con financiamiento del Fondo de Fomento a la Investigación (FOFOI) del IMSS, a través de la partida presupuestal del proyecto: FP2005/6/II/143 y a los fondos proporcionados por la Fundación Terry Fox a través del Consulado de Canadá en Bahía de Banderas y por el programa de Fortalecimiento de la Investigación Biomédica y Apoyo al Pregrado, Programa Peso x Peso del Ingreso Propio Fundación Río Arronte. Vale Rec. 1064/2003. El médico residente de ginecoobstetricia implicado participó en el Programa de estancia de tiempo completo de residentes de especialidades médicas por Unidades de Investigación de las Coordinaciones de Educación e Investigación en Salud de la Delegación IMSS, Jalisco, México.

## REFERENCIAS

1. Sibai BM. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2003;102:181-92.
2. Farag K, Hassan I, Ledger WL. Prediction of preeclampsia: can it be achieved? *Obstet Gynecol Survey* 2004;59(6):464-82.
3. Zareian Z. Hypertensive disorders of pregnancy. *Int J Obstet Gynecol* 2004;87:194-8.
4. Darmochwal-Kolarz D, Rolinski J, Tabarkiewicz J, Leszczynska-Gorzela B, et al. Myeloid and lymphoid dendritic cells in normal pregnancy and pre-eclampsia. *J Clin Exp Immunol* 2003;132:339-44.
5. López-Llera M, Díaz de León-Ponce M, Rodríguez-Argüelles J, Ayala-Ruiz AR. Preeclampsia-eclampsia: un problema médico diferido. *Gac Med Mex* 1999;135(4):397-405.
6. Velasco-Murillo V, Navarrete-Hernández E. Mortalidad materna por ruptura hepática. Experiencia de 15 años. *Rev Med IMSS* 2001;39(5):459-64.
7. Peralta-Pedrero ML, Guzmán-Ibarra MA, Basavilazo-Rodríguez MA, Sánchez-Ambríz S y col. Elaboración y validación de un índice para el diagnóstico de preeclampsia. *Ginecol Obstet Mex* 2006;74:205-14.
8. Sánchez-Sarabia E, Gómez Díaz J, Morales-García V. Preeclampsia severa, eclampsia, síndrome HELLP, comportamiento clínico. *Rev Fac Med UNAM* 2005;48(4):145-50.
9. Dekker GA, Sibai BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia. *Current concepts. Am J Obstet Gynecol* 1998;179(5):1359-75.
10. Huddlestone H, Schust DJ. Immune interactions at the maternal-fetal interface: a focus on antigen presentation. *Am J Reprod Immunol* 2004;51:283-89.
11. Le Rond S, González A, González ASL, Carosella ED, Rouas-Freiss N. Indoleamine 2,3 dioxygenase and human leucocyte antigen-G inhibit the T-cell alloproliferative response through two independent pathways. *Immunology* 2005;116:297-307.
12. Mellor AL, Munn DH. IDO expression by dendritic cells: tolerance and tryptophan catabolism. *Nat Rev Immunol* 2004;4:762-74.
13. Somers DA, Zheng Y, Kilby MD, Sansom DM, Drayson MT. Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25+CD4+ regulatory T-cell subset. *Immunology* 2004;112:38-43.
14. Joyee AG, Qiu H, Wang S, Fan Y, et al. Distinct NKT Cell Subsets are induced by different Chlamydia species leading to differential adaptive immunity and host resistance to the infections. *J Immunol* 2007;178:1048-58.
15. Trundle A, Moffet A. Human uterine leukocytes and pregnancy. *Tissue Antigens* 2004;63:1-12.
16. Wilczyński JR, Tchórzewski H, Banasik M, Glowacka E, et al. Lymphocyte subset distribution and cytokine secretion in third trimester decidua in normal pregnancy and preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002;109:8-15.
17. Wilson SB, Byrne MC. Gene expression in NKT cells: defining a functionally distinct CD1d-restricted T cell subset. *Curr Opin Immunol* 2001;13:555-61.
18. Paeschke S, Chen F, Horn N, Fotopoulou C, et al. Preeclampsia is not associated with changes in the levels of regulatory T cells in peripheral blood. *Am J Rep Immunol* 2005;54:384-9.



19. Godfrey DI, Hammond KJ, Poulton LD, Smyth MJ, Baxter AG. NKT cells: facts, functions and fallacies. *Immunol Today* 2000;21(1):573-83.
20. Kronenberg M, Gapin L. The unconventional lifestyle of NKT cells. *Nat Rev Immunol* 2002;2:557-68.
21. Saito S, Umekage H, Sakamoto Y, Sakai M, et al. Increased T Helper 1 type immunity and decreased T helper 2 type immunity in patients with pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol* 1999;41:297-306.
22. Wang S, Li C, Kawamura H, Watanabe H, Abo T. Unique sensitivity to  $\alpha$ -galactosylceramide of NKT cells in the uterus. *Cellular Immunology* 2002;215:98-105.
23. Dang Y, Beckers J, Wang CR, Heyborne KD. Natural killer 1.10 ab T cells in the peri implantation uterus. *Immunology* 2000;101:484-91.
24. Ito K, Karasawa M, Kawano T, Akasaka T, et al. Involvement of decidual V $\alpha$ 14 $\alpha$  NKT cells in abortion. *Proc Natl Acad Sci* 2000;97:740-4.
25. Borzychowski AM, Croy BA, Chan WL, Redman CW, Sargent IL. Changes in systemic type 1 and type 2 immunity in normal pregnancy and pre-eclampsia may be mediated by natural killer cells. *Eur J Immunol* 2005;35(10):3054-63.

## I CURSO BÁSICO DE ENDOSCOPIA GINECOLÓGICA

Avalado por la  
**Asociación Mexicana de Endoscopia Ginecológica y Microcirugía, AC.**

Profesores titulares:

**Dr. Alfonso Arnesto Santos**  
**Dr. Fernando Marín Maldonado**

Julio de 2008, Cuernavaca, Morelos, México.

*Costos:\**

Hasta el 31 de mayo: \$2,500.00

Del 1 al 30 de junio: \$3,000.00

A partir del 1 de julio: \$3,500.00

Informes e inscripciones:

Dr. Fernando Marín  
Tel.: (777) 317-8588, e-mail: [endoginecologia@yahoo.com.mx](mailto:endoginecologia@yahoo.com.mx)

<http://www.geocities.com/endoginecologia/index.html>

\* Incluye el curso teórico y las prácticas, además de la afiliación a la AMEGM y al Colegio de Endoscopia Ginecológica de Morelos.