

CONCENTRACIONES DE FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA EN PACIENTES CON PREECLAMPSIA A TÉRMINO Y PRETÉRMINO.

Eduardo Reyna-Villasmil, Jorly Mejia-Montilla, Nadia Reyna-Villasmil, Duly Torres-Cepeda, Joel Santos-Bolívar.

Servicio de Obstetricia y Ginecología - Maternidad "Dr. Nerio Belloso". Hospital Central "Dr. Urquinaona". Final Av. El Milagro. Maracaibo, Estado Zulia. Venezuela. Tel. +58 416 2605233. e-mail: sippenbauch@gmail.com

Resumen.

El objetivo de la investigación fue comparar las concentraciones de factor de necrosis tumoral alfa en pacientes con preeclampsia a término y pre-término. Se seleccionó un total de 50 pacientes. Se incluyeron a 20 pacientes preeclámpticas pre-término (grupo A) y 30 preeclámpticas a término (grupo B). Las muestras de sangre para la determinación de factor de necrosis tumoral alfa se recolectaron en todas las pacientes antes del parto e inmediatamente después del diagnóstico de preeclampsia. No se encontraron diferencias significativas con relación a la edad materna, índice de masa corporal y valores promedio de presión arterial sistólica y diastólica al momento de la toma de la muestra ($p = ns$). Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con respecto a la edad gestacional ($p < 0.05$). Las concentraciones de factor de necrosis tumoral alfa fueron similares en el grupo de preeclámpticas pre-término (98.2 ± 45.1 pg/ml) comparado con el grupo de preeclámpticas a término (96.6 ± 48.7 pg/ml; $p = ns$). No se observó una correlación significativa de las concentraciones de factor de necrosis tumoral alfa con los valores promedio de presión arterial sistólica y diastólica ($p = ns$). Se concluye que las pacientes preeclámpticas con embarazos pretérmino presentaron concentraciones similares de factor de necrosis tumoral alfa al compararlo con preeclámpticas a término.

Palabras clave: Factor de necrosis tumoral alfa. Preeclampsia. Citokinas.

Abstract.

Tumour necrosis factor alpha concentrations in term and pre-term preeclamptic patients.

The objective of research was to compare concentrations of tumour necrosis factor alpha in term and pre-term preeclamptic patients. Fifty patients were selected. Twenty pre-term preeclamptic patients (group A) and thirty term preeclamptic patients (group B) were selected. Blood samples for tumour necrosis factor alpha was collected in all patients before labor and immediately after diagnosis of preeclampsia. There were not significant differences related to a maternal age, body mass index an mean values of systolic and diastolic blood pressure at the moment of collecting samples ($p = ns$). There were significant differences between groups in gestational age ($p < 0,05$). Tumour necrosis factor alpha concentrations were similar in study group A (98.2 ± 45.1 pg/ml) compared with group B (96.6 ± 48.7 pg/ml; $p = ns$). There was not significant correlation between tumour necrosis factor alpha and mean values of systolic and diastolic blood pressure ($p = ns$). It is concluded that pre-term preeclamptic patients showed similar concentrations of tumour necrosis factor alpha compared with term preeclamptic patients.

Keywords: Tumour necrosis factor alpha. Preeclampsia. Cytokines.

INTRODUCCIÓN.

La preeclampsia es una enfermedad multisistémica caracterizada por una alteración endotelial difusa, incremento de la resistencia vascular periférica, alteraciones de la coagulación, estrés oxidativo, dislipidemia y aumento de las citokinas producidas por los leucocitos (Saito et al. 2007). Se han propuesto diferentes hipótesis para explicar la fisiopatología de la preeclampsia: isquemia

placentaria, alteraciones de las lipoproteínas plasmáticas, mala adaptación inmune y factores genéticos (Ayuk et al. 2006). La hipótesis de la mala adaptación inmune sugiere que la preeclampsia es

	Grupo A Preeclámptica s pretérmino (n = 20)	Grupo B Preeclámptica s a término (n = 30)	p
Edad materna, años	21.7 +/- 2.4	22.8 +/- 2.6	ns
Edad gestacional, semanas	35.0 +/- 0.7	38.3 +/- 1.1	< 0,05
Índice de masa corporal, kg/m ²	27.4 +/- 1.5	27.9 +/- 1.8	ns
Presión arterial sistólica, mm de Hg	149.4 +/- 11.3	148.1 +/- 12.3	ns
Presión arterial diastólica, mm de Hg	103.8 +/- 8,6	102.7 +/- 7.9	ns

Reyna-Villasmil et al. 2012. Concentraciones de factor de necrosis tumoral en pacientes con preeclampsia. *MedULA* 21: 104-108.

causada por la inadecuada regulación de la respuesta inmune Th2 materna, lo cual lleva a un aumento de la dañina inmunidad Th1 (Reyna et al. 2009). La disfunción endotelial observada en la preeclampsia puede ser parte de una activación incontrolada y excesiva de la respuesta inflamatoria materna al embarazo y la respuesta inflamatoria inmune generalizada que ocurre en la preeclampsia es secundaria al aumento de las concentraciones de citocinas circulantes (Borzycowski 2006).

Las citocinas son mediadores protéicos solubles involucrados en la respuesta inmune, las reacciones inflamatorias, el control de la respuesta inmune materna y el desarrollo fetoplacentario (Vince et al. 1995). El factor de necrosis tumoral (FNT) alfa, inicialmente llamado caquectina, es un inmunoestimulante y mediador de la inflamación, capaz de promover algunos factores de crecimiento. Lo producen los macrófagos, las células T citotóxicas, la placenta y los tejidos deciduales (Molina et al. 1999). Otra función es mediar la implantación, modular la invasión del trofoblasto al útero, inhibir *in vitro* la síntesis de ADN y la proliferación celular del trofoblasto (Kupferminc et al. 1994, Maekawa et al. 2000, Bowen et al. 2002). El FNT-alfa es detectable por inmunotinciones en los extremos proliferativos de las vellosidades, en el citotrofoblasto intersticial (aunque no en las células gigantes multinucleadas) y en el trofoblasto que penetra a las arterias espirales (Pijnenborg et al. 1998). Además, está involucrado en el mecanismo de parto (Figueroa et al. 2005). Su concentración plasmática en embarazadas muestra importantes variaciones interindividuales y dependientes de la edad de gestación; se ha descrito un aumento paralelo en el segundo trimestre y luego disminuye (Visser et al. 2002). Diferentes datos sugieren que el FNT-alfa contribuye a las alteraciones endoteliales y a la dislipidemia que caracterizan la fisiopatología de la preeclampsia.

El objetivo de la investigación fue comparar las concentraciones de factor de necrosis tumoral alfa en pacientes con preeclampsia a término y pre-término.

Tabla 1. Características generales.

METODOLOGÍA.

Estudio prospectivo que analizó la concentración de factor de necrosis tumoral alfa, en un total de 50 pacientes preeclámpticas primigestas con diferentes edades gestacionales; 20 pacientes preeclámpticas de pretérmino (grupo A) y 30 pacientes preeclámpticas de término (grupo B). Se definió preeclampsia como la presencia de presión arterial mayor o igual a 140/90 mm Hg, en dos tomas separadas por 6 o más

horas, y proteinuria de 24 horas ≥ 300 mg, o 1-2 cruces de proteinuria en un examen cualitativo, en gestaciones ≥ 20 semanas. La investigación fue aprobada por el Comité de Ética de la institución y se obtuvo consentimiento por escrito de todas las pacientes.

Los criterios de exclusión fueron antecedentes de enfermedad hipertensiva preexistente (antes de las 20 semanas), hábito tabáquico, enfermedad cardíaca o renal, diabetes mellitus, embarazo múltiple y tratamiento con medicamentos que puedan alterar el metabolismo de la FNT-alfa.

Las muestras de sangre (10 ml), obtenidas de la vena antecubital, se recolectaron en todas las pacientes antes del parto e inmediatamente después del diagnóstico, y se las dejó coagular a temperatura ambiente. Posteriormente, a los 30 minutos de tomada las muestras, fueron centrifugadas a 4500 rpm por 10 minutos y almacenadas a -80° C. Se utilizó una prueba de inmunoabsorbencia ligada a enzima para la medición cuantitativa de la FNT-alfa en cada muestra. Todas las mediciones fueron hechas por duplicado y el promedio de las dos mediciones fue el resultado final. La sensibilidad del método fue de 3.5 pg/ml. El coeficiente de variación intra e inter-ensayo fue menor del 5%.

Los valores obtenidos se presentaron como promedio \pm desviación estándar. Se utilizó la prueba t de Student para muestras no relacionadas para el análisis de los grupos y la comparación de las variables continuas. Los coeficientes de correlación entre la FNT-alfa y la presión arterial sistólica y diastólica se evaluaron usando la prueba de Pearson. Se consideró un valor $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

RESULTADOS.

Las características generales de los dos grupos de pacientes se muestran en la tabla 1. No se encontraron diferencias significativas en relación con la edad materna, índice de masa corporal y valores promedio de presión arterial sistólica y diastólica al momento de la toma de la muestra ($p = ns$). Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con respecto a la edad gestacional ($p < 0.05$).

No hubo diferencias estadísticamente significativa en las concentraciones de FNT-alfa entre las pacientes en el grupo de preeclámpticas de pretérmino (grupo A: 98.2 ± 45.1 pg/ml) y las preeclámpticas de término (grupo B: 96.6 ± 48.7 pg/ml (Figura 1). Al realizar la correlación entre las concentraciones de FNT-alfa y los valores de presión arterial, no se observaron correlaciones significativa con los valores de presión arterial sistólica ($r =$

Reyna-Villasmil et al. 2012. Concentraciones de factor de necrosis tumoral en pacientes con preeclampsia. *MedULA* 21: 104-108.

0.129; $p = ns$), ni con los valores de presión arterial diastólica ($r = 0.158$; $p = ns$).

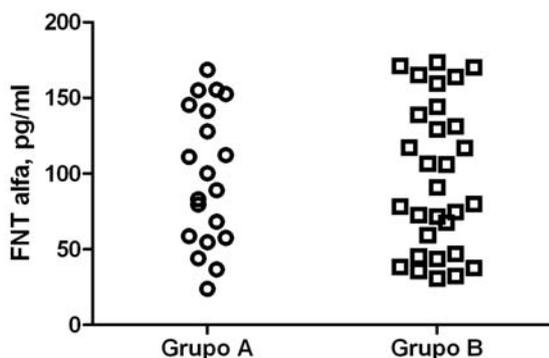


Figura 1. Concentraciones de factor de necrosis tumoral alfa en preeclámpticas pre-término (Grupo A) y preeclámpticas a término (Grupo B).

DISCUSIÓN.

En el presente estudio, no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de FNT-alfa en las pacientes con preeclampsia a término comparado con las pacientes con preeclampsia pretérmino. Tampoco se demostraron correlaciones significativas con los valores de presión arterial sistólica y diastólica.

La elevación de FNT-alfa es fundamental para el desarrollo de ciertas condiciones del embarazo, como el aborto, parto pretérmino y la restricción del crecimiento intrauterino (Pijnenborg et al. 1998, Figueroa et al. 2005). En mujeres sanas, se piensa que el FNT-alfa modula el crecimiento e invasión del trofoblasto en las arterias espirales (Kupferminc et al. 1994). Este factor puede contribuir a la invasión placentaria anormal, daño de las células endoteliales y estrés oxidativo (Maekawa et al. 2000, Reyna et al. 2009). Puede estimular la producción del interleucina (IL)-6, debido a que esta inhibe la liberación del factor de necrosis (Shalaby et al. 1989). Hay opiniones contradictorias en cuanto a una posible relación entre FNT circulante y la preeclampsia. Kupferminc et al (1994) encontraron que los valores plasmáticos de la citokina, cuantificados por inmunoanálisis, son más fácilmente detectables, y tienen concentraciones superiores en preeclámpticas, que en las embarazadas normales. Durante el parto, las cifras fueron superiores en preeclámpticas, tanto en plasma como en líquido amniótico, pero se igualan entre 20 y 24 horas después. Visser et al. (1994) reportaron concentraciones elevadas de FNT-alfa bioactivo en plasma de preeclámpticas. Schiff et al. (1994), por el contrario, no encontraron diferencias significativas en las concentraciones de FNT-alfa de pacientes con preeclámpticas y controles, pero reportan que los

valores de la citokina son inferiores, tanto en plasma fetal como materno, cuando existe restricción intrauterina del crecimiento del feto de causa indeterminada.

Se ha descrito la presencia de concentraciones elevadas de FNT-alfa en el suero de embarazadas del primer trimestre que, más tarde, desarrollaron cuadro clínico de la hipertensión durante el embarazo (Serin et al. 2002). Vince et al. (1995) reportaron concentraciones altas de IL-6, FNT-alfa y sus receptores, concentraciones que fueron superiores en las pacientes con trombocitopenia. Las concentraciones plasmáticas de los receptores del FNT-alfa, pueden ser un marcador clínico mejor que la misma citokina (Maymon et al. 1999).

La placenta hipóxica parece ser la fuente de cantidades por encima de lo normal del FNT-alfa. En los embarazos normales, es necesario que el trofoblasto extraveloso exprese la proteína HLA-G, a fin de modular negativamente la formación de esta citokina (Kanai et al. 2001), cuya producción exagerada pudiera conducir al aborto, así como limitar la invasión trofoblástica. La supresión de la formación del factor, tiene importancia la espermina, que a su vez, requiere de la presencia de fetuina (Wang et al. 1997). En la preeclampsia, no se expresa la proteína HLA-G en el trofoblasto extraveloso (Goldman-Wohl et al. 2000), por lo que se puede pensar en la presencia de un incremento del FNT-alfa. La hipoxia placentaria, en condiciones experimentales, estimula la secreción de citocinas proinflamatorias. La capacidad de responder a la hipoxia con una mayor secreción de IL-1 y FNT-alfa, pertenece principalmente a las vellosidades placentarias.

La fuente y el inicio de la producción excesiva de FNT-alfa en la preeclampsia es desconocida, puede tener su origen en los monocitos, los neutrófilos o la placenta misma. Ambas clases de monocitos están activados en la preeclampsia (Greer et al. 1989). Uno de los posibles mecanismos es que en la preeclampsia uno o más factores derivados de la placenta estimulan los monocitos y / o los neutrófilos para producir el factor, el cual a su vez, causa las alteraciones subyacentes en el síndrome materno. La producción por la placenta puede tener algún papel fisiológico o patológico, ya que el sinciotrofoblasto de la placenta normal contiene ARN mensajero del factor y factor biológicamente activo (Vince et al. 1995, Haider et al. 2009).

El FNT-alfa puede causar daño tisular, mediante la acción de proteasas, colagenasas o fosfolipasa A2, o a través de radicales de oxígeno (Dai et al. 2004). La afección de las células endoteliales lleva a alteraciones locales del flujo sanguíneo,

Reyna-Villasmil et al. 2012. Concentraciones de factor de necrosis tumoral en pacientes con preeclampsia. *MedULA* 21: 104-108.

obstrucción de vasos y aumento de la permeabilidad del endotelio, elementos señalados como característicos de la secreción patológica de esta citokina (Dai et al. 2004). Entre sus acciones también figuran la facilitación de la actividad procoagulante, por inducción del factor tisular de células endoteliales y supresión de la activación de la proteína C, y la liberación de sustancias vasopresoras, como la endotelina-1 (Vemulapalli et al. 1991) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (Hajjar et al. 1987). Todas estas alteraciones son compatibles con lo que sucede en la preeclampsia. El FNT-alfa ejerce acciones sobre la activación plaquetaria que tiene la preeclampsia, en fases preclínicas, desde temprano. Añadir esta sustancia al plasma rico en plaquetas, antes de la prueba de ADP, resulta en la disminución de la agregación en las muestras de no gestantes y de gestantes no complicadas, pero no en las preeclámpticas (Bar et al. 2001).

Dentro de este esquema del mecanismo de la enfermedad, las citocinas actúan a distintos niveles. Se conoce que, el FNT-alfa y la IL-1 inducen la lipólisis en las células grasas (Feingold, 1991). Las dos sustancias, más la IL-6, promueven la síntesis de novo de ácidos grasos en el hígado, y sin la última, actúan negativamente sobre la oxidación hepática de los ácidos grasos y la cetogénesis (Zechner et al. 1988; Feingold et al 1991). El FNT-alfa y la IL-6, además, disminuyen la actividad de la lipasa lipoprotéica y empeoran la remoción de la circulación de lipoproteínas ricas en triglicéridos (Kota et al. 2005). Algunos productos de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad, inducen la liberación de IL-1beta por las células mononucleares sanguíneas (Pfanzagl 2006).

CONCLUSIÓN.

Las pacientes preeclámpticas con embarazos pretérmino presentaron concentraciones similares de factor de necrosis tumoral alfa al compararlo con preeclámpticas a término.

REFERENCIAS.

Ayuk P, Matijevic R. 2006. Placental ischaemia is a consequence rather than a cause of pre-eclampsia. *Med Hypotheses* 67: 792-795.
Bar J, Zosmer A, Hod M. 2001. Changes in the effects of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha on platelet activation in early pregnancy. *Platelets* 12: 453-455.
Borzychowski A, Sargent I, Redman C. 2006. Inflammation and pre-eclampsia. *Semin Fetal Neonatal Med* 11: 309-316.

Bowen J, Chamley L, Mitchell M. 2002. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: biosynthesis, secretion and roles in establishment of pregnancy in women. *Placenta* 23: 239-256.

Dai S, Nishioka K, Yudoh K. 2004. Interleukin (IL) 18 stimulates osteoclast formation through synovial T cells in rheumatoid arthritis: comparison with IL1 beta and tumour necrosis factor alpha. *Ann Rheum Dis* 63: 1379-1386.

Feingold K, Soued M, Adi S. 1991. Effect of interleukin-1 on lipid metabolism in the rat. Similarities to and differences from tumor necrosis factor. *Arterioscler Thromb* 11: 495-500.

Figueroa R, Garry D, Elimian A. 2005. Evaluation of amniotic fluid cytokines in preterm labor and intact membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med* 18: 241-247.

Goldman-Wohl D, Ariel I, Greenfield C. 2000. Lack of human leukocyte antigen-G expression in extravillous trophoblasts is associated with preeclampsia. *Mol Hum Reprod* 6: 88-95.

Greer I, Haddad N, Dawes J. 1989. Increased neutrophil activation in diabetic pregnancy and in nonpregnant diabetic women. *Obstet Gynecol* 74: 878-881.

Haider S, Knöfler M. 2009. Human tumour necrosis factor: physiological and pathological roles in placenta and endometrium. *Placenta* 30: 111-123.

Hajjar K, Hajjar D, Silverstein R. 1987. Tumor necrosis factor-mediated release of platelet-derived growth factor from cultured endothelial cells. *J Exp Med* 166: 235-245.

Kanai T, Fujii T, Unno N. 2001. Human leukocyte antigen-G-expressing cells differently modulate the release of cytokines from mononuclear cells present in the decidua versus peripheral blood. *Am J Reprod Immunol* 45: 94-99.

Kota R, Ramana C, Tenorio F. 2005. Differential effects of lipoprotein lipase on tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma-mediated gene expression in human endothelial cells. *J Biol Chem* 280: 31076-1084.

Kupferminc M, Peaceman A, Wigton T. 1994. Immunoreactive tumor necrosis factor-alpha is elevated in maternal plasma but undetected in amniotic fluid in the second trimester. *Am J Obstet Gynecol* 171: 976-979.

Maekawa H, Iwabuchi K, Nagaoka I. 2000. Activated peritoneal macrophages inhibit the proliferation of rat ascites hepatoma AH-130 cells via the production of tumor necrosis factor-alpha and nitric oxide. *Inflamm Res* 49: 541-547.

Maymon E, Ghezzi F, Edwin S. 1999. The tumor necrosis factor alpha and its soluble receptor profile in term and preterm parturition. *Am J Obstet*

Reyna-Villasmil et al. 2012. Concentraciones de factor de necrosis tumoral en pacientes con preeclampsia. *MedULA* 21: 104-108.

Gynecol 181: 1142-1148.

Molina R, Romero T, Ruiz A. 1999. Citocinas en la fisiopatología de la preeclampsia. *Gac Med Caracas* 107: 505-516.

Pfanzagl B. 2006. LDL oxidized with iron in the presence of homocysteine/cystine at acidic pH has low cytotoxicity despite high lipid peroxidation. *Atherosclerosis* 187: 292-300.

Pijnenborg R, McLaughlin P, Vercruyse L. 1998. Immunolocalization of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in the placental bed of normotensive and hypertensive human pregnancies. *Placenta* 19: 231-239.

Reyna E, Briceño C, Torres D. 2009. Inmunología, inflamación y preeclampsia. *Rev Obstet Ginecol Venez* 69: 97-110.

Saito S, Shiozaki A, Nakashima A. 2007. The role of the immune system in preeclampsia. *Mol Aspects Med* 28: 192-209.

Schiff E, Friedman S, Baumann P. 1994. Tumor necrosis factor-alpha in pregnancies associated with preeclampsia or small-for-gestational-age newborns. *Am J Obstet Gynecol* 170: 1224-1229.

Serin I, Ozçelik B, Basbug M. 2002. Predictive value of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 100: 143-145.

Shalaby M, Waage A, Aarden L 1989. Endotoxin, tumor necrosis factor-alpha and interleukin 1 induce

interleukin 6 production in vivo. *Clin Immunol Immunopathol* 53: 488-498.

Vemulapalli S, Chiu P, Rivelli M. 1991. Modulation of circulating endothelin levels in hypertension and endotoxemia in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 18: 895-903.

Vince G, Starkey P, Austgulen R. 1995. Interleukin-6, tumour necrosis factor and soluble tumour necrosis factor receptors in women with preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 102: 20-25.

Visser W, Beckmann I, Knook M. 2002. Soluble tumor necrosis factor receptor II and soluble cell adhesion molecule 1 as markers of tumor necrosis factor-alpha release in preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 81: 713-719.

Visser W, Beckmann I, Bremer H. 1994. Bioactive tumour necrosis factor alpha in pre-eclamptic patients with and without the HELLP syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 101: 1081-1082.

Wang H, Zhang M, Soda K. 1997. Fetuin protects the fetus from TNF. *Lancet* 350: 861-862.

Zechner R, Newman T, Sherry B. 1988. Recombinant human cachectin/tumor necrosis factor but not interleukin-1 alpha downregulates lipoprotein lipase gene expression at the transcriptional level in mouse 3T3-L1 adipocytes. *Mol Cell Biol* 8: 2394-2401.

Recibido: 24 feb 2012. Aceptado: 15 mayo 2012