



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Instituto Nacional de Perinatología
Isidro Espinosa de los Reyes

*“Cuantificación de IL-1 β , IL-10 y TNF- α en plasma de
pacientes con desarrollo de preeclampsia”*

T E S I S

Que para obtener el Título de:

ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

P R E S E N T A

Mariana González Díaz

Dr. Rodrigo Zamora Escudero

**PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE
ESPECIALIZACIÓN EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA**

M. en C. Héctor Flores Herrera

DIRECTOR DE TESIS



MÉXICO, D. F.

AÑO 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Cuantificación de IL-1 β , IL-10 y TNF- α en plasma de pacientes con desarrollo de preeclampsia

González-Díaz M¹, Flores-Herrera H²

¹Médico Residente de la Especialidad de Ginecología y Obstetricia, Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"

²Investigador en ciencias médicas; Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"

Correspondencia:

Mariana González Díaz, MR.

Montes Urales 800, Colonia Lomas de Virreyes, cp 11000

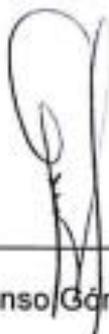
México D.F

Correo electrónico: mariana_gd23@hotmail.com

AUTORIZACIÓN DE TESIS

TÍTULO DE LA TESIS

"Cuantificación de IL-1 β , IL-10 y TNF- α en plasma de pacientes con desarrollo de preeclampsia"



Dr. Enrique Alfonso Gómez Sánchez

Director de Educación en Ciencias de la Salud
Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"



Dr. Rodrigo Zamora Escudero

Profesor Titular del Curso en Especialización en Ginecología y Obstetricia
Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"



M en C. Héctor Flores Herrera

Director de Tesis

Investigador en Ciencias Médicas.
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular.
Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"

INDICE

RESUMEN.....	5
ABSTRACT.....	6
INTRODUCCIÓN.....	7
JUSTIFICACIÓN.....	11
HIPÓTESIS.....	11
OBJETIVO GENERAL	11
MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
RESULTADOS	15
DISCUSIÓN	17
CONCLUSIONES	20
AGRADECIMIENTOS.....	20
BIBLIOGRAFÍA.....	21
TABLAS Y FIGURAS.....	23
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	27

1. RESUMEN

Introducción

La preeclampsia (PE) es la patología obstétrica que afecta hasta el 8% de los embarazos, clínicamente se identifica por elevación de las cifras de tensión arterial después de la semana 20 de gestación, acompañada de proteinuria, y constituye una de las principales causas de morbi-mortalidad materno-fetal. La PE se caracteriza por una respuesta sistémica inflamatoria de tipo Th2 como producto de la hipoxia/isquemia por invasión superficial del trofoblasto.

Objetivo

Cuantificar el perfil de secreción en el plasma materno a las citocinas inflamatorias de tipo IL-1 β , y TNF- α y de la citocina anti-inflamatoria IL-10 en pacientes con desarrollo de preeclampsia.

Material y métodos

Se obtuvieron muestras de sangre maternal en pacientes con embarazos mayores a 20 semanas de gestación en ausencia de proceso inflamatorio agudo, las cuales se centrifugaron a 1500rpm durante 5-10 minutos para separar el plasma materno, los cuales se mantuvieron a 40°C para su posterior procesamiento.

Resultados

En las pacientes con evidencias clínicas de PE encontramos un incremento de 5.5- ($p = 0.014$; Fig. 2A), y 4.8-veces ($p = 0.003$; Fig. 2B) en la secreción de IL-1 β , y de TNF- α respectivamente comparadas con el grupo de sanas. La concentración de la IL-10, disminuyó 1-8 veces en el grupo de PE con respecto al grupo control ($p = 0.054$; Fig. 2C)

Conclusiones

Las concentraciones de IL-1 β , IL-10 y TNF- α sugieren que estos marcadores pueden ser utilizados como biomarcadores en el desarrollo de PE.

Palabras clave

Preeclampsia, plasma materno, IL-6, IL-10 y TNF- α

2. ABSTRACT

Preeclampsia (PE) is an obstetric condition that affects up to 8% of pregnancies, is identified clinically by elevated levels of blood pressure after the 20th weeks of gestation, accompanied by proteinuria, and is one of the main causes of maternal and fetal morbidity and mortality. The PE is characterized by a systemic inflammatory Th2-type response, as a result of hypoxia/ischemia secondary to superficial trophoblast invasion.

We quantify the secretion profile in maternal plasma of inflammatory cytokines IL-1 β and TNF- α and anti-inflammatory cytokine IL-10 in patients with preeclampsia development

Material and methods

Maternal blood samples were obtained in patients with pregnancies after 20 weeks of gestation in the absence of acute inflammatory process, which were centrifuged at 1500 rpm for 5-10 minutes to separate maternal plasma, which were maintained at 40° C for further processing.

Results

In patients with clinical evidence of PE we found an increase of 5.5- ($p = 0.014$; Fig. 2A), and 4.8-fold ($p = 0.003$; Fig. 2B) on the secretion of IL-1 β and TNF- α respectively, compared to the healthy group. The concentration of IL-10, decreased 8.1 times in the PE group compared to the control group ($p = 0.054$; Fig. 2C).

Conclusions

The concentration of IL-1 β , IL-10 and TNF- α suggest that they can be as biomarkers in the development of PE.

Keywords

Preeclampsia, maternal plasma, IL-6, IL-10 and TNF- α

3. INTRODUCCIÓN

Epidemiología y etiología de la preeclampsia

Los trastornos hipertensivos del embarazo ocasionan 18% de las muertes maternas a nivel mundial, con un estimado de 62 000–77 000 muertes por año, siendo el de mayor riesgo la preeclampsia (PE) (riesgo relativo para muerte materna 3.73)^[1]. En el Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes” se ha reportado una incidencia estimada de 9.6% en los últimos 5 años (1846 casos), con muerte materna en 0.16% de estas pacientes. [Departamento de Estadística y Metas Institucionales INPer 2009-2014].

La PE es un trastorno específico del embarazo^[2], con una incidencia global 2-10% y condiciona una alta morbi-mortalidad materno fetal^[2, 3]. Se estima que en México se presenta en aproximadamente 3.84% de los embarazos^[1].

El Colegio Americano de Ginecología y Obstetricia (ACOG) indica que se establece el diagnóstico de PE después de la semana 20 de gestación con las siguientes características: **1)** elevación de la presión arterial en mujeres previamente normotensas (sistólica >140mmHg o diastólica >90mmHg en dos ocasiones con al menos 4 horas de diferencia, sistólica >160mmHg o diastólica >110mmHg confirmada en minutos), **2)** proteinuria (>300mg en 24 horas o labstix ≥1+ o relación proteínas/creatinina >0.3), o **3)** en ausencia de proteinuria: trombocitopenia <100 000/μl, creatinina sérica >1.1 mg/dL o elevación de transaminasas al doble de la concentración normal^[4]. Sin embargo, estos marcadores clínicos y bioquímicos son evidentes hasta que la PE se ha desarrollado.

Fisiopatología en el desarrollo de la preeclampsia

No se ha descrito con exactitud su etiología y fisiopatología^[2], sin embargo, se ha propuesto como eje principal la inadecuada remodelación por parte de las células del sincitiotrofoblasto sobre las arterias uterinas espirales maternas^[5] produciendo la restricción del flujo sanguíneo materno con hipoxia/isquemia en el seno placentario, induciendo el incremento de especies reactivas de oxígeno (ROS), producto del daño extensivo de la integridad endotelial^[3].

En el embarazo normal, existen micropartículas de sincitiotrofoblasto (STBM)^[6] producto de la apoptosis del trofoblasto^[7], que al ser reconocidas por los leucocitos mononucleares periféricos, inducen una respuesta Th2, con inhibición de INF- γ . Sin embargo, en la PE los niveles de STBM se encuentran elevados, por lo que no se suprime la producción de IFN- γ por las células NK, lo que induce una respuesta Th1, con incremento en los niveles de IFN- γ , IL-12, IL-18 y TNF- α . Las STBM se unen a receptores de monocitos y algunas células B mediante receptores toll-like (TLR), induciendo fagocitosis. Además, las STBM del trofoblasto hipóxico específicamente, inducen niveles aún mayores de IL-6 y TNF- α por las células mononucleares periféricas^[6].

El factor de transcripción NF κ β es un regulador de la expresión de genes inflamatorios que promueve la producción de citocinas proinflamatorias, su activación se asocia al estrés oxidativo. Todas las vías que activan los receptores toll like (TLR) culminan en la activación de NF κ β ^[6].

Las células trofoblásticas hipóxicas producen concentraciones elevadas de IL-6 e IL-8, sin embargo, los monocitos son la principal fuente de citocinas

proinflamatorias en PE (principalmente IL-1 β , IL-6 e IL-8). Los monocitos clásicos son CD14⁺⁺CD16⁻, los intermedios CD14⁺⁺CD16⁺ y los no clásicos CD14⁺CD16⁺⁺. En el embarazo normal se encuentran porcentajes bajos de monocitos clásicos y elevados de no clásicos e intermedios, en pacientes con PE se encuentran niveles aún mayores de monocitos no clásicos e intermedios, además de presentar una expresión elevada de TLR4. Los monocitos intermedios secretan citocinas inflamatorias y ROS, y se cree que participan en la angiogénesis, los monocitos no clásicos producen IL-12 e IL-18^[6].

Tanto TNF- α como IL-6 tienen la capacidad de activar las proteínas RAS, promoviendo el estrés oxidativo, con incremento en las moléculas vasoconstrictoras derivadas del endotelio, además los niveles elevados de TNF- α correlacionan con el incremento en factores antiangiogénicos como sENG y sFlt1^[6].

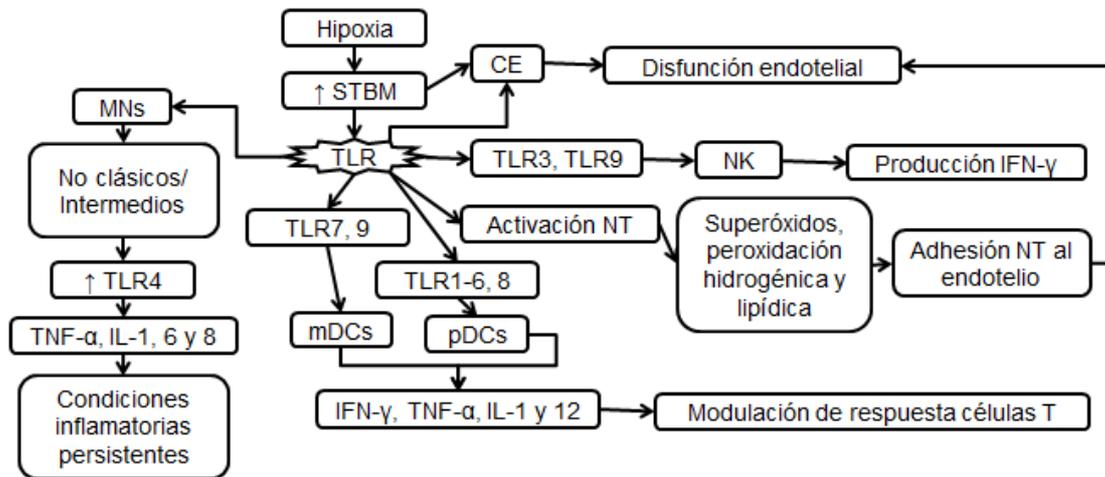


Figura 1 Modelo conceptual en el que se indica los principales eventos en el desarrollo de la preeclampsia. Las células del citotrofoblasto (STBM) realizan una inadecuada remodelación de las arterias espirales maternas lo que promueve en la placenta la circulación materna, promueven condiciones inflamatorias en las que mediante receptores toll-like (TLR) se estimulan neutrófilos (NT), monocitos (MNs), natural killers (NK), células endoteliales (CE) y células dendríticas mieloides (mDCs) o plasmacitoides (pDCs). La información se obtuvo de Laresgoiti-E [6].

Diferentes estudios han demostrado en pacientes con desarrollo de PE un aumento significativo en sangre periférica de IL-1 β , IL-2, 1L-10, IL-12, IFN- γ y TNF- α [3, 8, 9].

Existen controversias sobre la participación que tiene el TNF- α en el desarrollo de la PE. Mihu y colaboradores (2015) encontraron 3-veces la elevación de TNF- α sérico en el último trimestre del embarazo, sin embargo otros autores no han demostrado correlación con los niveles de TNF- α e IL-6 en el desarrollo de la PE[3]. Cackovic et al (2008) proponen que los niveles de TNF- α están disminuidos en plasma, pero la depuración renal y excreción disminuidas de TNF- α son los causantes de PE[10]. En el presente estudio nos propondremos a demostrar la siguiente hipótesis en el desarrollo de la PE se detectará en el plasma materno un incremento significativo de las citocinas inflamatoria (IL-1 β , -10, TNF α) con respecto a las pacientes que no desarrollen ésta patología.

4. JUSTIFICACIÓN

Se ha reportado en PE un predominio de respuesta Th1, con incremento en los niveles de IL-1 β , IL-12, IL-18, IFN- γ y TNF- α , así como disminución de citocinas antiinflamatorias (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13), lo que culmina con disfunción endotelial y estrés oxidativo, que finalmente desencadenan la sintomatología característica de esta patología.

El propósito de este estudio es cuantificar los niveles de IL-1 β , TNF- α e IL-10 en plasma materno de pacientes con PE y compararlos con los niveles de pacientes sanas, para determinar la utilidad de éstas citocinas como biomarcadores de preeclampsia.

5. HIPOTESIS

En el desarrollo de la PE se detectará en el plasma materno un incremento significativo de las citocinas inflamatoria con respecto a las pacientes que no desarrollen ésta patología.

6. OBJETIVO GENERAL

Caracterizar el perfil de secreción de las citocinas inflamatorias en el plasma de las pacientes con desarrollo de preeclampsia.

6.1 Objetivos particulares

1. Cuantificar la secreción en plasma de la IL-1 β , -10 y del TNF α de las pacientes con desarrollo de PE mediante el ensayo de ELISA
2. Cuantificar la secreción en plasma de la IL-1 β , -10 y del TNF α de las pacientes sin desarrollo de PE mediante el ensayo de ELISA.
3. Comparar los niveles de secreción entre los dos grupos.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Características de las pacientes

Para el desarrollo del presente proyecto se incluirán pacientes que ingresen al Instituto Nacional de Perinatología para su seguimiento y control perinatal y cuyo embarazo sea único y mayor a las 20 semanas de edad gestacional la cual será determinada mediante su último periodo menstrual y confirmado por ultrasonido. A cada paciente se le dará seguimiento obstétrico hasta el momento de su alumbramiento.

Previo a la obtención de las muestras de sangre materna se platicará con las pacientes explicándoles la finalidad del proyecto y que la toma de sangre no afectará con el bienestar de ella ni de su bebé, no tendrá costo y su decisión no afectará con la atención médica. Finalmente, se le da la carta de consentimiento informado para que la paciente firme de manera libre.

Dentro del manejo que se les da a las pacientes que clínicamente desarrollen PE en el Instituto, se les manda a realizar las pruebas de bioquímica de laboratorio de forma rutinaria, las cuales consisten en: determinación de proteinuria, creatinina, ácido úrico, y transaminasas. Motivo por el cual, estos valores serán recabados del archivo clínico de las pacientes.

Criterios de no inclusión

Pacientes con embarazos gemelar, que presenten problemas genéticos fetales, que estén bajo tratamiento inmunosupresor o que hayan tenido abortos recurrentes.

Criterios de exclusión

Serán aquellas pacientes que hayan cumplido con los criterios de inclusión; pero que hayan desarrollado complicaciones asociadas a la respuesta inflamatoria, diabetes gestacional, lupus eritematoso, presencia de infecciones durante su gestación que deriven prematuramente a la ruptura de las membranas fetales y/o en la activación del trabajo de parto.

Al finalizar el embarazo se determinará que pacientes desarrollaron PE, y se registrará la edad gestacional al momento de nacimiento y los parámetros

bioquímicos (grupo de casos). Estos datos serán comparados con las pacientes que no desarrollaron PE (grupo control).

Criterios de eliminación

Aquellas pacientes que decidan retirar su consentimiento informado, cuando no exista el volumen de plasma para todos los ensayos y/o cuando no estén los datos en los archivos clínicos correspondientes.

7.2 Diseño del estudio

Tipo de investigación: Descriptiva y observacional

Características del estudio

- a) Por la participación del investigador: DESCRIPTIVO
- b) Por la temporalidad del estudio: TRANSVERSAL

Unidades de observación: los valores se reportarán en pg/mL

Tamaño de la muestra: Tomando en cuenta la incidencia anual de la PE (10 %) y por la temporalidad del estudio así como por la experiencia de nuestro grupo de investigación nos propusimos incluir un total de 60 pacientes con evidencias de PE y 60 pacientes sin evidencias de PE las cuales se parearon por edad gestacional con respecto al grupo de PE:

Variables de estudio

Variable dependiente: La expresión de IL-1 β , IL-10 y TNF- α

Variable independiente: El desarrollo de preeclampsia

7.3 Toma de sangre periférica

Cinco mililitros de sangre periférica materna será obtenida por punción de la vena cefálica y se colectará en tubos que contengan K₂-EDTA el procedimiento lo realizará el personal médico que participa en el desarrollo del presente proyecto. La sangre será inmediatamente centrifugada a 14 000 rpm por 10 minutos y el plasma será recuperado en tubos Eppendorf. El plasma será almacenado a -70°C para la cuantificación de las citocinas

inflamatorias (IL-1 β , -10, y TNF α) mediante el ensayo de inmuno ensayo tipo sándwich; ELISA).

7.4 Cuantificación de las citocinas en el plasma

La cuantificación de la IL-1 β (DY201), IL-10 (DY417), y TNF-alfa (DY410) se realizaron en el plasma mediante el ensayo de ELISA con las recomendaciones de la casa comercial y como ha sido reportado previamente por nuestro grupo de investigación [11,12]. El procedimiento consiste en 1) preparación de la placa (Nunc-Immuno Brand products, Denmark) con el anticuerpo de captura respectivo para cada ensayo; 2) curva estándar con 7 puntos por duplicado IL-1 β (3.90-250 pg/mL), -10 (31.2-2000 pg/mL), TNF α (15.6-1000 pg/mL); 3) 100 μ l de las muestras de plasma; 4) lavados de la placa; 5) adición del cromógeno de estreptavidina-HRP (R&D); 6) lavar la placa; 7) adicionar 100 μ l de la mezcla de la solución de sustrato (1:1 reactivo A y reactivo B; (DY999, R&D), y 8) lectura de la placa a 450 nm.

7.5 Análisis estadístico

La comparación de las citocinas inflamatorias entre el grupo de pacientes que desarrollaron preeclampsia con respecto a las pacientes que no desarrollaron esta patología se usará la prueba de ANOVA seguida del análisis post-hoc de Mann-Whitney mediante el programa SigmaStat (v10; USA). Los datos serán mostrados como la media \pm SD y se considerará una diferencia estadísticamente significativa menor de 0.05. Para determinar la correlación entre las citocinas inflamatorias (IL-1 β , -10 y TNF α) y los valores de bioquímica de laboratorio (proteinuria, creatinina y de ácido úrico y transaminasas) se realizará mediante la correlación de Spearman teniendo una diferencia estadísticamente significativa menor a 0.05.

8. RESULTADOS

En el periodo de noviembre 2014 a junio 2015 obtuvimos un total de 86 pacientes las cuales fueron asignadas a dos grupos de acuerdo a la presencia (n=50) o ausencia (n=38) en el desarrollo de las características clínicas de preeclampsia de acuerdo a los criterios de inclusión. Las características de la población de estudio se muestran en la tabla 1 y 2.

Características clínicas de las pacientes de estudio

La edad materna entre ambos grupos no mostró una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.64$; Tabla 1). El peso materno entre el grupo de pacientes con PE mostró una diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo de pacientes sanas ($p = < 0.001$).

Con respecto a las características neonatales observamos que la edad gestacional al momento del nacimiento en el grupo de PE no mostró diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo de pacientes sanas ($p = 0.007$). Se encontró diferencia significativa en el peso fetal entre ambos grupos ($p = < 0.001$).

En el grupo de pacientes con PE 28% clasificaron como PE leve (Tabla 2) y 72% como PE severa. En cuanto al manejo, se utilizó alfametildopa en 88% de las pacientes, hidralazina en 60%, nifedipino en 64% y sulfato de magnesio en 32%.

Determinación de las citocinas en el plasma

En las pacientes con evidencias clínicas de PE encontramos un incremento de 5.5- ($p = 0.014$; Fig. 2A), y 4.8-veces ($p = 0.003$; Fig. 2B) en la secreción de

IL-1 β , y de TNF α respectivamente comparadas con el grupo de sanas. La concentración de la IL-10, disminuyó 1-8 veces en el grupo de PE con respecto al grupo control ($p = 0.054$; Fig. 2C).

9. DISCUSIÓN

La inadecuada remodelación por parte de las células del sincitiotrofoblasto sobre las arterias uterinas espirales^[5, 9] inducen la activación de la respuesta inflamatoria del tipo Th1 por parte de las células profesionales del sistema inmunológico caracterizadas por la IL-2, IFN- γ y TNF- α (Figura 1)^[6], retrasando las reacciones de hipersensibilidad de tipo Th2 anti inflamatorias (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13), con incremento de la inmunidad humoral^[8]. Los genes para la producción de TNF- α , IL-6 e IL-10 se localizan en regiones cromosómicas cercanas al complejo de histocompatibilidad^[9].

Los principales resultados demuestran que en las pacientes con desarrollo clínico de PE se da: 1) el aumento significativo en la citocinas inflamatorias de tipo IL-1 β y de TNF α ; y 2) la reducción de la respuesta anti-inflamatoria de tipo IL-10 con respecto a las pacientes sin esta patología (Fig. 2).

La IL-1 es una citocina pro-inflamatoria que incrementa la producción de trombina, induce la producción de factor activador de plaquetas y estimula la expresión de moléculas de adhesión, favoreciendo la coagulación^[7]. Se ha demostrado que la IL-1 β induce la activación del factor de necrosis tumoral de tipo alfa (TNF- α)^[12].

Se sugiere que TNF- α es secretado por macrófagos que residen en la placenta, y que colabora con otras moléculas para limitar la invasión trofoblástica extravellosa de los segmentos de arterias espirales mediante la apoptosis^[9], además de alterar el balance entre agentes vasodilatadores y vasoconstrictores que se secretan a la circulación materna^[2]. TNF- α promueve la apoptosis y la fuga intravascular^[8], ocasionando activación endotelial sistémica, daño vascular^[7] y por tanto preeclampsia^[8]. TNF- α

regula otras citocinas pro y antiinflamatorias como IL-6^[2]. TNF- α e IL-1 promueven cambios estructurales y funcionales en las células endoteliales, incluyendo estrés oxidativo, activación del complemento, secreción de vasoconstrictores, micro trombosis con necrosis y niveles elevados de tromboxano^[8].

En 2013 Lau y colaboradores realizaron un meta análisis demostrando que TNF- α es significativamente mayor en mujeres con preeclampsia en comparación con mujeres normotensas (media 8.11 pg/mL, IC 95% 5.87-10.34 pg/mL), sin embargo, no encontraron una diferencia significativa en mujeres con preeclampsia con y sin datos de severidad^[2]. Nuestros datos demuestran que en las pacientes con evidencias clínicas de preeclampsia un aumento de 4.8-veces con respecto al grupo de pacientes sanas (Fig. 2A).

IL-6 es una citocina multifuncional que participa en la inflamación aguda y crónica y la autoinmunidad, controla el reclutamiento leucocitario, activación, diferenciación y apoptosis^[14], se cree que puede estar relacionada con los mecanismos de respuesta del huésped^[3], desempeña un papel importante en la proliferación trofoblástica, invasión y diferenciación, y podría ser el marcador más útil de disfunción endotelial^[9]. Un estudio reciente demostró que IL-6 ocasiona un incremento en los desechos placentarios necróticos, los cuales activan a las células endoteliales^[5]. Diferentes estudios han demostrado un incremento hasta 2-3 veces los niveles de IL-6 desde el primer trimestre^[3]. Niveles elevados de IL-6 desde la semana 22-24 se relacionan con riesgo de preeclampsia^[5]. La IL-6 es regulada negativamente por IL-10 y a su vez puede disminuir TNF- α ^[2].

La IL-10 es un importante antiinflamatorio que inhibe el incremento en MMP-2

y MMP-9, y promueve la disminución en la respuesta inflamatoria Th1 contra la unidad feto-placentaria^[8], afecta la interacción entre las células endoteliales y el trofoblasto durante la placentación y regula negativamente los niveles tanto de IL-6 como de TNF- α ^[2].

Los niveles de IL-10 en preeclampsia son controversiales. En 2013 Pinhero et al^[15] demostraron niveles disminuidos de IL-10 en pacientes con PE. Otros autores han encontrado niveles elevados en placenta y sangre periférica de pacientes con PE. En 2013 un meta análisis de 5 estudios incluyendo 355 pacientes demostró que IL-10 se encuentra significativamente elevada en mujeres con preeclampsia en comparación con mujeres normotensas embarazadas (media 5.54, IC 95% 0.69-10.38), sin diferencia significativa en mujeres con preeclampsia con y sin datos de severidad^[2], se sugiere que esta elevación pueda corresponder a una respuesta compensatoria a los niveles elevados de IL-2, IL-12, IFN- γ y TNF- α ^[8]. Nuestros datos demuestran que las pacientes con PE disminuye 1.8-veces la concentración de IL-10 con respecto a las pacientes sanas (Fig. 2C), la cual corresponde con lo reportado por Pinhero et al, y se relaciona con el estado inflamatorio en la preeclampsia^[6].

Xie y colaboradores^[9] demostraron un incremento de TNF α (19.63 pg/mL; IC 95% 18.54-20.72 pg/mL), IL-6 (6.58 pg/mL; IC 95% 5.49-7.67 pg/mL) y de IL-10 (19.30 pg/mL; IC 95% 8.42-30.17 pg/mL) en pacientes con PE^[9].

10. CONCLUSIONES

Los niveles IL-1 β , -10 y TNF α determinados en el plasma sugieren que éstos pueden ser utilizados como biomarcadores en el desarrollo de PE. Actualmente en nuestro grupo de investigación iniciaremos la determinación de estas citocinas en el primer trimestre de embarazo en población que acuda a la unidad de Ginecología y Obstetricia para su seguimiento obstétrico, para determinar su utilidad como predictores de PE.

11. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se desarrollo con fondos federales al Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes” mediante el proyecto con número de registro 212250-3210091 (otorgado a HFH).

12. BIBLIOGRAFIA

1. Abalos E, Cuesta C, Carroli G, Qureshi Z, Widmer M, Vogel JP, et al. Pre-eclampsia, eclampsia and adverse maternal and perinatal outcomes: a secondary analysis of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. *BJOG*. 2014; 121(1): 14-24
2. Lau SY, Guild SJ, Barret CJ, Chen Q, McCowan L, Jordan V, et al. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, and interleukin-10 levels are altered in preeclampsia: a systematic review and meta analysis. *Am J Reprod Immunol*. 2013; 70: 412-427.
3. Mihu D, Razvan C, Malutan A, Mihaela C. Evaluation of maternal systemic inflammatory response in preeclampsia. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2015; 54: 160-166.
4. Roberts JM, August PA, Bakris G, Barton JR, Bernstein IM, Druzin M, et al. Hypertension in pregnancy: Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists task force on hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2013; 122(5): 1122-1131.
5. Xiao JP, Yin YX, Gao YF, Lau S, Shen F, Zhao M, et al. The increased maternal serum levels of IL-6 are associated with the severity and onset of preeclampsia. *Cytokine*. 2012; 60: 856-860.
6. Laresgoiti-E. A leading role for the immune system in the pathophysiology of preeclampsia. *J Leukoc Biol*. 2013; 94(2): 247-257.
7. Raghupathy R. Cytokines as Key Players in the Pathophysiology of Preeclampsia. *Med Princ Pract*. 2013; 22(1): 8-19
8. Kumar A, Begum N, Prasad S, Agarwal S, Sharma S. IL-10, TNF- α & IFN- γ : Potential early biomarkers for preeclampsia. *Cell Immunol*. 2013; 283: 70-74.
9. Xie C, Yao MZ, Liu JB, Xiong LK. A meta-analysis of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, and interleukin-10 in preeclampsia. *Cytokine*. 2011; 56: 550-559.
10. Cackovic M, Buhimschi CS, Zhao G, Funai EF, Norwitz ER, Kucynski E, et al. Fractional excretion of tumor necrosis factor in women with severe preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2008; 112: 93-100.
11. Flores-Herrera H, García-López G, Díaz NF, Molina-Hernández A, Osorio-Caballero M, Soriano-Becerril D, et al. An experimental mixed bacterial infection induced differential secretion of proinflammatory cytokines (IL-1b, TNFa) and proMMP-9 in human fetal membranes. *Placenta*. 2012; 33: 271-277.
12. Osorio-Caballero M, Perdigon-Palacio C, García-López G, Flores-Herrera O, Olvera-Sanchez S, Morales-Mendez I, et al. Escherichia coli-induced temporal and differential secretion of heatshock protein 70 and interleukin-1 β by human fetal membranes in a two-compartment culture system. *Placenta*. 2015; 36: 262-269.
13. Ledesma E, Martínez I, Córdova Y, Rodríguez-Sosa M, Monroy A, Mora L, et al. Interleukin-1 beta (IL-1 beta) induces tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) expression on mouse myeloid multipotent cell line 32D cl3 and inhibits their proliferation. *Cytokine*. 2004; 26(2): 66-72.

14. Prins JR, Gómez-López N, Robertson SA. Interleukin-6 in pregnancy and gestational disorders. *J Reprod Immunol.* 2012; 95: 1-14.
15. Pinhero MB, Martins-Filho OA, Mota AP, Alpoim PN, Godoi LC, Silveira AC, et al. Severe preeclampsia goes along with a cytokine network disturbance towards a systemic inflammatory state. *Cytokine.* 2013; 62(1):165-173.

13. TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1- Características demográficas de pacientes que cursaron con preeclampsia y controles.

	Preeclampsia (n = 47)	Control (n = 36)	p
Edad materna (años)	30,2 ± 8,0	29,3 ± 9,2	0.642
Talla (cm)	1,57 ± 0,06	1,58 ± 0,06	0.454
Peso (kg)	76,60 ± 12,13	63,2 ± 7,2	<0.001*
IMC (kg/m ²)	31,0 ± 4,7	25,1 ± 2,3	<.0001*
Gestas	2,2 ± 1,3	2.1 ± 1,2	0.718
Semanas de gestación	35,8 ± 3,6	37,7 ± 2,7	0.007*
Peso fetal (gramos)	2297 ± 785,7	3065 ± 453,0	<0.001*
Sexo del recién nacido	Masculino 32 (68,1%) Femenino 15 (31,9 %)	Masculino 18 (50 %) Femenino 18 (50 %)	0.095
Vía de resolución	Parto 7 (14,9%) Cesárea 40 (85,1%)	Parto 12 (33,3%) Cesárea 24 (66,7%)	0.048*

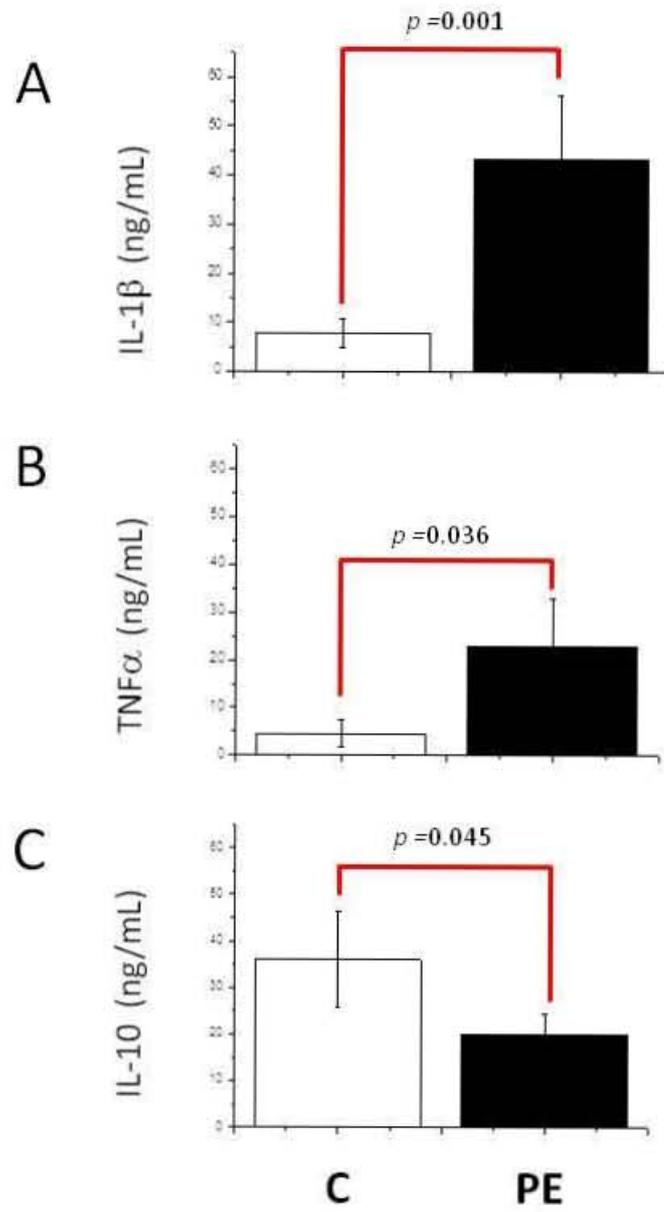
- ***p < 0.05 considerada estadísticamente significativa***

Los promedios de las pacientes con preeclampsia y sanas se compararon con pruebas t y los resultados expresados en porcentajes con Chi cuadrada.

Tabla 2- Características de las pacientes con preeclampsia

	Preeclampsia (n=50)	
Clasificación PE		
PE leve	14	28%
PE severa	36	72%
Manejo		
Alfametildopa	44	88%
Hidralazina	30	60%
Nifedipino	32	64%
Sulfato de magnesio	16	32%
Complicaciones	9	18%
Hemorragia	5	10%
Hipotonía	3	6%
Desgarro	5	10%

Figura 2- Perfil de la secreción de las citocinas



PIES DE FIGURAS

Tabla 1- Características de las pacientes de estudio. Se encuentran diferencia estadísticamente significativa entre pacientes con preeclampsia y controles únicamente en peso e IMC materno, así como en peso fetal, todos con $p < 0.001$

Tabla 2- Características de las pacientes con preeclampsia. En nuestro estudio 72% de las pacientes cursaron con preeclampsia severa, el medicamento más utilizado para el control de cifras tensionales fue alfametildopa en 88%, se presentaron complicaciones durante la resolución en 18% de las pacientes.

Figura 2- Perfil de la secreción de las citocinas. Las determinaciones se realizó en el plasma de pacientes con desarrollo de preeclampsia (PE; $n=40$) y en pacientes sanas (C; 36) y se cuantifico a la IL-1 β (A), TNF α (C), e IL-10 (C). Los datos representan la media \pm desviación estándar. En cada caso se muestra la diferencia entre ambos grupo la cual fue determinada mediante la prueba de Mann-Whitney.

16. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Fecha de inicio: 01 Agosto de 2014

Fecha de término: 30 Junio 2015

ACTIVIDAD	MES CALENDARIO											
	PROGRAMADO											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	X	X	X		X	X				X	X	
PREPARACIÓN DEL PROYECTO	X	X										
COLECTA DE LAS MUESTRAS	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
CUANTIFICACIÓN DE CITOCINAS CON ELISA							X				X	
REVISIÓN DE EXPEDIENTES						X				X	X	
PROCESAMIENTO DE DATOS						X					X	
ANÁLISIS DE INFORMACIÓN							X			X		
AVANCES DE TESIS								X			X	
OBTENCIÓN DEL GRADO ACADÉMICO												X