

ORIGINAL

Concentraciones de interleucina-15 en preeclámpicas y embarazadas normotensas sanas

E. Reyna-Villasmil*, J. Mejia-Montilla, N. Reyna-Villasmil, D. Torres-Cepeda, J. Santos-Bolívar y J. Aragón-Charris

Servicio de Obstetricia y Ginecología, Maternidad Dr. Nerio Belloso, Hospital Central Dr. Urquizaona, Maracaibo, Venezuela

Recibido el 6 de junio de 2011; aceptado el 16 de septiembre de 2011

Disponible en Internet el 18 de enero de 2012

PALABRAS CLAVE

Interleucina-15;
Preeclampsia;
Embarazo

Resumen

Objetivo: Comparar las concentraciones de interleucina-15 en pacientes con preeclampsia y embarazadas normotensas sanas.

Método: Se seleccionó un total de 100 pacientes. Se incluyeron 50 pacientes preeclámpicas como los casos (grupo A) y un grupo control seleccionado por tener una edad y un índice de masa corporal similares al grupo de estudio que consistió en 50 embarazadas normotensas sanas (grupo B). Las muestras de sangre se recolectaron en todas las pacientes antes del parto e inmediatamente después del diagnóstico en el grupo B para determinar las concentraciones de interleucina-15.

Resultados: No se encontraron diferencias significativas con relación a la edad materna, edad gestacional e índice de masa corporal al momento de la toma de la muestra ($p = ns$). Se encontraron diferencias estadísticamente significativa en las concentraciones de interleucina-15 entre las pacientes en el grupo de estudio (grupo A; $3,21 \pm 0,79$ pg/ml) y las pacientes del grupo control (grupo B; $2,26 \pm 0,24$ pg/ml; $p < 0,05$). Se observó una correlación moderada, positiva y significativa con los valores de presión arterial sistólica ($r = 0,584$; $p < 0,05$) y con los valores de presión arterial diastólica ($r = 0,589$; $p < 0,05$).

Conclusiones: Las preeclámpicas presentaron concentraciones significativamente más altas de interleucina-15 al compararlo con embarazadas normotensas sanas.

© 2011 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Interleukin-15;
Preeclampsia;
Pregnancy

Interleukin-15 concentrations in preeclamptic and healthy normotensive pregnant patients

Abstract

Objective: To compare interleukin-15 concentrations in preeclamptic patients and healthy normotensive pregnant women.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: sippenbauch@gmail.com (E. Reyna-Villasmil).

Method: A total of 100 patients were selected. Fifty preeclamptic patients were selected as cases (group A) and 50 normotensive pregnant women with a similar age and body mass index to the study group were selected as controls (group B). Blood samples were collected before labor in all patients and immediately after diagnosis in group B to determine interleukin-15 concentrations.

Results: There were no significant differences in maternal age, gestational age or body mass index at sample extraction ($p=ns$). Interleukin-15 concentrations were significantly higher in patients in the study group (group A; 3.21 ± 0.79 pg/ml) than in those in the control group (group B; 2.26 ± 0.24 pg/ml; $p < 0.05$). There was a moderate, positive and significant correlation with systolic blood pressure values ($r = 0.584$; $p < 0.05$) and diastolic blood pressure values ($r = 0.589$; $p < 0.05$).

Conclusions: Interleukin-15 concentrations were significantly higher in preeclamptic patients than in healthy normotensive pregnant women.

© 2011 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La preeclampsia es un desorden multisistémico del embarazo con manifestaciones clínicas como hipertensión y proteinuria. Aunque la causa del desorden aún es desconocida, los conceptos actuales sugieren una disfunción generalizada del endotelio vascular materno como hallazgo patogénico central¹.

La hipótesis de mala adaptación sugiere que la preeclampsia se debe a una inapropiada regulación de la respuesta materna inmune Th2, llevando a una desviación hacia la perjudicial inmunidad Th1^{2,3}. El inicio de la disfunción endotelial en la preeclampsia es desconocido, pero se ha demostrado que las citokinas producen activación de los neutrófilos y de la adhesión celular al endotelio produciendo daño vascular⁴. Se conoce que las citokinas juegan un papel principal no solo en la señalización del sistema inmune, sino también en la ovulación, implantación, placentación y parto⁵.

La interleucina (IL) 15 fue inicialmente descrita como factor activador de los linfocitos T y tiene similitud estructural a la IL-2^{6,7}. Es una citokina pleitrófica, ya que induce la proliferación de las células T y la maduración de las células B⁶. Se expresa en numerosos tejidos y células humanas normales incluyendo monocitos activados⁷. La expresión por células no inmunes sugiere que tienen actividad mas allá del sistema inmune^{6,7}. Las concentraciones séricas están incrementadas en condiciones inflamatorias como lupus eritematoso sistémico y enfermedades alérgicas^{8,9}. La presencia de IL-15 en la interfase materno-fetal indica que esta tiene un papel durante el embarazo, pero en la actualidad es poco comprendido⁷. Aunque se conoce que las citokinas, incluyendo IL-6 e IL-10, están alteradas en la preeclampsia^{10,11}, existe poca información sobre las concentraciones en las preeclápticas.

El objetivo de la investigación fue comparar las concentraciones de interleucina 15 en pacientes con preeclampsia y embarazadas normotensas sanas.

Método

Se seleccionó a un total de 100 pacientes. Se incluyó a 50 pacientes preeclápticas los casos (grupo A) y un grupo

control seleccionado por tener edad e índice de masa corporal similares al grupo de estudio, que consistió en 50 embarazadas normotensas sanas (grupo B). Todas las pacientes eran primigestas. El comité de ética del hospital aprobó el estudio.

La preeclampsia se definió como la presión arterial sistólica de 140 mm de Hg o más, o presión arterial diastólica de 90 mm de Hg o más, confirmada por 6 h o más de diferencia, mientras que la proteinuria se definió como 300 mg o más de proteína en una muestra de 24 h, o 1-2 cruces de proteinuria en un examen cualitativo después de las 20 semanas de gestación.

Los criterios de exclusión fueron antecedentes de enfermedad hipertensiva preexistente (antes de las 20 semanas), enfermedad cardíaca o renal, diabetes mellitus, hábito tabáquico, embarazo múltiple y tratamiento con medicamentos que puedan alterar las concentraciones de IL-15.

Las muestras de sangre (10 ml) se recolectaron en todas las pacientes antes del parto e inmediatamente después del diagnóstico en el grupo de casos de la vena antecubital y se las dejó coagular a temperatura ambiente. Posteriormente, fueron centrifugadas a 1.000 g por 15 minutos a los 60 minutos de tomada la muestra y almacenadas con posterioridad a -80 °C. Se utilizó una prueba de inmunoabsorción ligada a enzima para la medición cuantitativa de la IL-15 en cada muestra. Todas las mediciones fueron hechas por duplicado y el promedio de las 2 mediciones fue el resultado final. La sensibilidad fue de 2 pg/ml. El coeficiente de variación intra e inter-ensayo fue menor del 10%.

Los valores obtenidos se presentaron como promedio \pm desviación estándar. La prueba de la t de Student para muestras no relacionadas se utilizó para el análisis de los grupos y para comparar las variables continuas. Los coeficientes de correlación entre la IL-15 y la presión arterial sistólica y diastólica se evaluaron usando la prueba de Pearson. La precisión de la IL-15 para el diagnóstico de preeclampsia se presenta en función de la sensibilidad, la especificidad, el valor predictivo positivo, el valor predictivo negativo y la precisión. Se utilizó el análisis operador-receptor para determinar el mejor valor de corte. Se consideró $p < 0.05$ como estadísticamente significativa.

Tabla 1 Características generales

	Grupo A Preeclámpicas (n = 50)	Grupo B Controles (n = 50)	p
Edad materna, años	22,3 ± 2,6	21,3 ± 3,8	ns
Edad gestacional, semanas	36,9 ± 1,9	37,3 ± 2,0	ns
Índice de masa corporal, Kg/m ²	27,6 ± 1,7	27,5 ± 1,7	ns
Presión arterial sistólica, mm de Hg	148,6 ± 11,8	103,9 ± 6,8	< 0,05
Presión arterial diastólica	103,2 ± 8,1	73,5 ± 7,7	< 0,05

Tabla 2 Concentraciones de interleucina-15

	Grupo A Preeclámpicas (n = 50)	Grupo B Controles (n = 50)	p
Interleucina-15, pg/mL	3,21 ± 0,79	2,26 ± 0,24	< 0,05

Tabla 3 Correlaciones entre las concentraciones de interleucina-15 y presión arterial

	Correlación (r)	p
Presión arterial sistólica	0,584	< 0,05
Presión arterial diastólica	0,589	< 0,05

Resultados

Las características generales de los dos grupos de pacientes se muestran en la **tabla 1**. No se encontraron diferencias significativas con relación a la edad materna, la edad gestacional y el índice de masa corporal al momento de la toma de la muestra ($p = \text{ns}$). Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en los valores promedio de presión arterial sistólica y diastólica ($p < 0,05$).

En la **tabla 2** se muestran los valores promedio de IL-15. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las pacientes en el grupo A ($3,21 \pm 0,79 \text{ pg/ml}$) y las pacientes del grupo B ($2,26 \pm 0,24 \text{ pg/ml}$; $p < 0,05$). Al realizar la correlación entre las concentraciones de IL-15 y los valores de presión arterial (**tabla 3**), se observó una correlación moderada, positiva y significativa con los valores de presión arterial sistólica ($r = 0,584$; $p < 0,05$) y con los valores de presión arterial diastólica ($r = 0,589$; $p < 0,05$).

En la **figura 1** se muestra la curva operador-receptor para la precisión de la IL-15 para el diagnóstico de preeclampsia. Un valor de corte de $2,40 \text{ pg/ml}$ presentó un valor por debajo de la curva de $0,86$ y tiene una sensibilidad del $78,0\%$ (intervalo de confianza del 95% [IC95%]; $66,5-89,4$), especificidad del $72,0\%$ (IC95%, $59,5-84,5$), valor predictivo positivo del $73,5\%$ (IC95%, $61,7-85,4$) y valor predictivo negativo del $76,6\%$ (IC95%, $64,4-88,7$) con una exactitud diagnóstica del $75,0\%$.

Discusión

En el presente estudio, las pacientes con preeclampsia presentaron concentraciones significativamente más altas de IL-15 en comparación con embarazadas normotensas sanas.

Dados los efectos dramáticos de las citokinas, se ha propuesto que el trofoblasto y las células endoteliales maternas son los blancos para la agresión inmune en la preeclampsia, ya que son las sustancias efectoras de esta agresión⁵. Sankaralingam et al.¹² sugieren que la acción de las citokinas es una de las hipótesis más atractivas de la disfunción inmune en este síndrome. Redman y Sargent¹³ sugieren que los hallazgos clínicos de la preeclampsia son bien descritos por una respuesta inflamatoria materna excesiva. La elevación observada en las concentraciones en la preeclampsia es probablemente debidas a la activación celular secundaria a una respuesta inflamatoria materna exagerada en respuesta a factores placentarios¹⁴.

Aunque algunos investigadores han clasificado a la IL-15 como una citokina proinflamatoria^{7,15-17}, otros pocos la han considerado como un co-estimulador de las citokinas tipo 2^{18,19}. La IL-15 actúa, junto a la IL-12, para inducir la producción de interferón gamma, IL-10 y factor de necrosis tumoral alfa^{20,21}, mientras que la IL-15 sola para ser un potente estímulo para la producción del factor estimulante de colonias de granulocitos por las células CD56 humanas^{20,22}. Debido a que la IL-15 actúa como un co-estimulador de la producción del interferón alfa por las células *natural killer*, es esencial para el control del ambiente proinflamatorio.

La IL-15 (pero no la IL-2) ha sido detectada en los macrófagos uterinos, amnios corion y células deciduales, sugiriendo una posible fuente durante el embarazo^{16,23,24}. También está presente en la placenta, la cual puede ser la fuente de la alteración de las concentraciones maternas de citokinas^{7,15,17}. La expresión de IL-15 ha demostrado alcanzar su pico en la mitad de la fase secretora de la menstruación humana normal y es regulada durante la deciduación inducida por progesterona²⁵. Debido a que co-estimula la producción de citokinas por las células *natural killer* en la sangre periférica, también puede estar involucrada en la producción de citokinas por las células *natural killer* uterinas, las cuales se han propuesto que regulan los cambios placentarios durante el embarazo²⁶. La IL-15 se expresa en células inmunes y no inmunes⁶⁻⁸. Es producida por monocitos activados y células dendríticas y sus concentraciones se incrementan durante los estados inflamatorios²⁷.

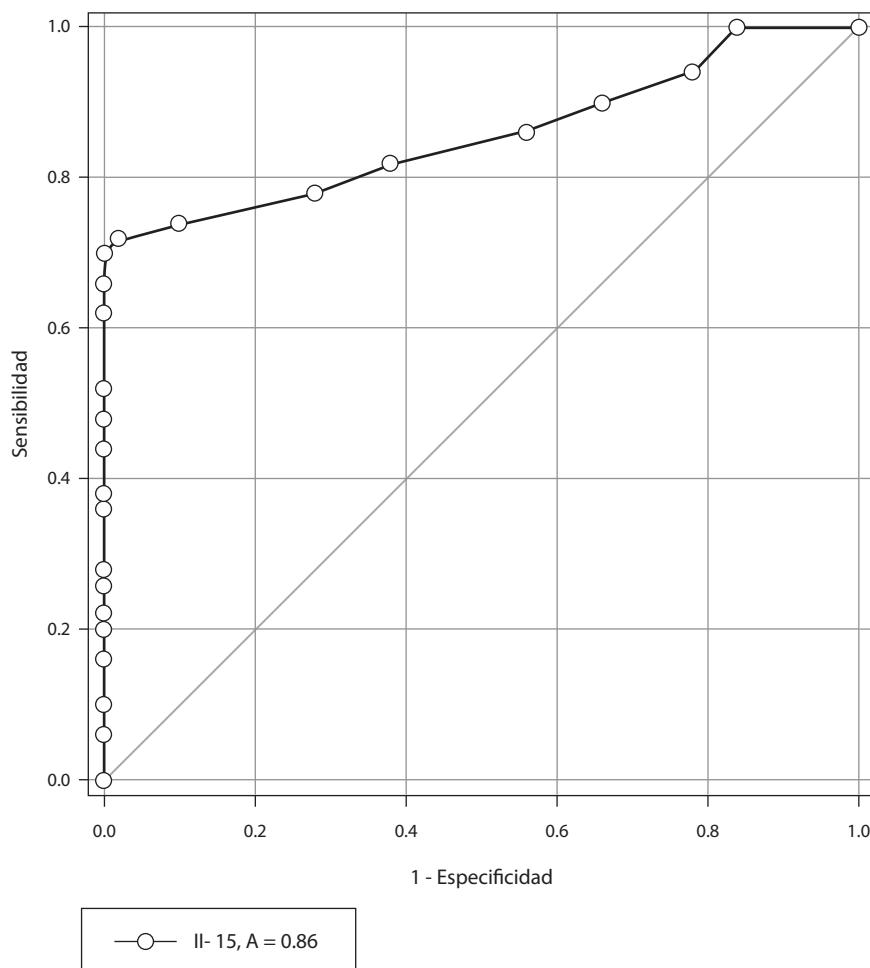


Figura 1 Curva operador-receptor para interleucina-15 para el diagnóstico de preeclampsia.

Agarwal et al.¹⁷ reportaron disminución en la expresión del ARN mensajero de la IL-15 y en la liberación del IL-15 inmunológidamente reactiva *in vitro* en la placenta de las preeclámpicas, sugiriendo que la placenta puede no ser la principal fuente del aumento en las concentraciones séricas de IL-15. Se ha propuesto que las células polimorfonucleares pueden ser el origen de este aumento²⁸.

Los reportes en la investigación médica sobre las concentraciones de la IL-15 y la preeclampsia son escasos^{28,29}. Hu et al.²⁸ encontraron concentraciones significativamente más altas en las preeclámpicas que en los controles y también encontraron diferencias en las concentraciones entre las preeclámpicas leves y las severas. El-Baradie et al.²⁹, utilizando una prueba de ELISA con un límite de detección similar al de la presente investigación, demostraron que un punto de corte de 3,2 pg/ml tenía una sensibilidad de 94,4%, especificidad de 89,9% y una precisión total de 91,4%. En la presente investigación se utilizó un punto de corte más bajo (2,4 pg/ml) y se encontraron valores de sensibilidad, especificidad y exactitud diagnóstica un poco menor a lo descrito previamente. Los hallazgos la elevación de las concentraciones séricas de IL-15 corroboran el hecho que la preeclampsia está asociada con una mayor respuesta inflamatoria comparado con el embarazo normal²⁹. Jonsson et al.³⁰ realizaron

determinaciones de citokinas en preeclámpicas y no pudieron detectar la presencia de IL-15.

La presente investigación también demostró una asociación positiva y significativa entre las concentraciones de IL-15 y los valores de presión arterial sistólica y diastólica, la cual no había sido reportada previamente. Estos hallazgos demostrarían que la IL-15 tiene relación directa con la preeclampsia y está asociada con una mayor respuesta inflamatoria comparado con el embarazo normal.

Se concluye que las preeclámpicas presentaron concentraciones significativamente más altas de interleucina-15 al compararlo con embarazadas normotensas sanas.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Gagnon A, Wilson R, Audibert F, Allen V, Blight C, Brock J, et al. Obstetrical complications associated with abnormal maternal serum markers analytes. *J Obstet Gynaecol Can*. 2008;30: 918-49.

2. Challis J, Lockwood C, Myatt L, Norman J, Strauss J, Petraglia F. Inflammation and pregnancy. *Reprod Sci.* 2009;16:206-15.
3. Saito S, Shiozaki A, Nakashima A, Sakai M, Sasaki Y. The role of the immune system in preeclampsia. *Mol Aspects Med.* 2007;28:192-209.
4. Nadar S, Al Yemeni E, Blann A, Lip G. Thrombomodulin, von Willebrand factor and E-selectin as plasma markers of endothelial damage/dysfunction and activation in pregnancy induced hypertension. *Thromb Res.* 2004;113:123-8.
5. Reyna E, Briceño C, Torres D. Inmunología, inflamación y preeclampsia. *Rev Obstet Ginecol Venez.* 2009;69:97-110.
6. Ma A, Koka R, Burkett P. Diverse functions of IL-2, IL-15, and IL-7 in lymphoid homeostasis. *Annu Rev Immunol.* 2006;24:657-79.
7. Chaouat G, Zourbas S, Ostožic S, Lappree-Delage G, Dubanchet S, Ledee N, et al. A brief review of recent data on some cytokine expressions at the materno-foetal interface which might challenge the classical Th1/Th2 dichotomy. *J Reprod Immunol.* 2002;53:241-56.
8. Liew F, McInnes I. Role of interleukin 15 and interleukin 18 in inflammatory response. *Ann Rheum Dis.* 2002;61 Suppl 2:ii100-2.
9. van Heel D. Interleukin 15: its role in intestinal inflammation. *Gut.* 2006;55:444-5.
10. Hennessy A, Painter D, Orange S, Horvath J. Placental tissue interleukin-10 receptor distribution in pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol.* 2003;49:377-81.
11. Al-Othman S, Omu A, Diejomaoh F, Al-Yatama M, Al-Qattan F. Differential levels of interleukin 6 in maternal and cord sera and placenta in women with pre-eclampsia. *Gynecol Obstet Invest.* 2001;52:60-5.
12. Sankaralingam S, Arenas I, Lalu M, Davidge S. Preeclampsia: current understanding of the molecular basis of vascular dysfunction. *Expert Rev Mol Med.* 2006;8:1-20.
13. Redman C, Sargent I. Pre-eclampsia, the placenta and the maternal systemic inflammatory response-a review. *Placenta.* 2003;24 Suppl A:S21-7.
14. Goldman-Wohl D, Yagel S. Examination of distinct fetal and maternal molecular pathways suggests a mechanism for the development of preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2007;76:54-60.
15. Laskarin G, Strbo N, Bogovic Crncic T, Juretic K, Ledee Bataille N, Chaouat G, et al. Physiological role of IL-15 and IL-18 at the maternal-fetal interface. *Chem Immunol Allergy.* 2005;89:10-25.
16. Fortunato S, Menon R, Lombardi S. IL-15, a novel cytokine produced by human fetal membranes, is elevated in preterm labor. *Am J Reprod Immunol.* 1998;39:16-23.
17. Agarwal R, Loganath A, Roy A, Wong Y, Ng S. Expression profiles of interleukin-15 in early and late gestational human placenta and in pre-eclamptic placenta. *Mol Hum Reprod.* 2001;7:97-101.
18. Masuda A, Matsuguchi T, Yamaki K, Hayakawa T, Kubo M, LaRochelle W, et al. Interleukin-15 induces rapid tyrosine phosphorylation of STAT6 and the expression of interleukin-4 in mouse mast cells. *J Biol Chem.* 2000;275:29331-7.
19. Mori A, Suko M, Kaminuma O, Inoue S, Ohmura T, Nishizaki Y, et al. IL-15 promotes cytokine production of human T helper cells. *J Immunol.* 1996;156:2400-5.
20. Carson W, Giri J, Lindemann M, Linett M, Ahdieh M, Paxton R, et al. Interleukin (IL) 15 is a novel cytokine that activates human natural killer cells via components of the IL-2 receptor. *J Exp Med.* 1994;180:1395-403.
21. Parihar R, Trotta R, Roda J, Ferketich A, Tridandapani S, Caligiuri M, et al. Src homology 2-containing inositol 5'-phosphatase 1 negatively regulates IFN-gamma production by natural killer cells stimulated with antibody-coated tumor cells and interleukin-12. *Cancer Res.* 2005;65:9099-107.
22. Fehniger T, Shah M, Turner M, VanDeusen J, Whitman S, Cooper M, et al. Differential cytokine and chemokine gene expression by human NK cells following activation with IL-18 or IL-15 in combination with IL-12: implications for the innate immune response. *J Immunol.* 1999;162:4511-20.
23. Wang C, Tanaka T, Nakamura H, Umesaki N, Hirai K, Ishiko O, et al. Granulated metrial gland cells in the murine uterus: localization, kinetics, and the functional role in angiogenesis during pregnancy. *Microsc Res Tech.* 2003;60:420-9.
24. Verma S, Hiby S, Loke Y, King A. Human decidual natural killer cells express the receptor for and respond to the cytokine interleukin 15. *Biol Reprod.* 2000;62:959-68.
25. Okada S, Okada H, Sanezumi M, Nakajima T, Yasuda K, Kanzaki H. Expression of interleukin-15 in human endometrium and decidua. *Mol Hum Reprod.* 2000;6:75-80.
26. Le Bouteiller P, Piccinni M. Human NK cells in pregnant uterus: why there? *Am J Reprod Immunol.* 2008;59:401-6.
27. Del Gobbo V, Giganti M, Zenobi R, Villani V, Premrov M. The immunosuppressive cytokines influence the fetal survival in patients with pregnancy-induced hypertension. *Am J Reprod Immunol.* 2000;44:214-21.
28. Hu W, Wang H, Wang Z, Huang H, Dong M. Elevated serum levels of interleukin-15 and interleukin-16 in preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2007;73:166-71.
29. El-Baradie S, Mahmoud M, Makhoul H. Elevated serum levels of interleukin-15, interleukin-16, and human chorionic gonadotropin in women with preeclampsia. *J Obstet Gynaecol Can.* 2009;31:142-8.
30. Jonsson Y, Rubèr M, Matthiesen L, Berg G, Nieminen K, Sharma S, et al. Cytokine mapping of sera from women with preeclampsia and normal pregnancies. *J Reprod Immunol.* 2006;70:83-91.