

Óxido nítrico, malondialdehído, perfil lipídico, factor de necrosis tumoral alfa y sus receptores solubles en mujeres no embarazadas, gestantes normales y preeclámpticas

Drs. José Núñez-González*, Charles Sanabria-Vera***, Tania Romero-Adrián***, Luis Núñez****, Isabel Montiel****, Filiberta Boscán*****, Edwin Boccechiampe*****

RESUMEN

Se diseñó un estudio clínico multicéntrico para determinar las concentraciones séricas del óxido nítrico, malondialdehído, lípidos, factor de necrosis tumoral α (TNF α) y sus receptores solubles I y II (sTNF α -RI y RII). Se seleccionaron 75 pacientes: 15 mujeres no embarazadas (grupo A), 45 gestantes normales, 15 por cada trimestre (grupos B, C y D) y 15 con diagnóstico de preeclampsia (grupo E). El óxido nítrico se midió por ensayo de diazotización, el malondialdehído por reacción con el ácido tiobarbitúrico, el perfil lipídico por análisis enzimático, el TNF α y los receptores solubles por ELISA. Para el análisis estadístico se utilizó el test ANOVA con pos test de Tukey y la t de Student. El óxido nítrico mostró una elevación significativa ($p < 0,001$) en el grupo D con respecto a los grupos A, B y C, mientras que el grupo E registró una caída significativa ($p < 0,001$) con respecto al D. El malondialdehído mantuvo valores similares entre los grupos. El colesterol, las VLDL y los triglicéridos (TG's) se elevaron durante el embarazo, con diferencias significativas ($p < 0,001$) del grupo D con respecto al A, B y C, mientras que el grupo E presentó valores significativamente más altos ($p < 0,01$) que los del D. El TNF α estaba significativamente disminuido ($p < 0,001$) en los grupos B, C y D con respecto al A. El sTNF α -RI y el sTNF α -RII alcanzaron cifras elevadas en el grupo E ($p < 0,001$) con respecto a los demás grupos. El embarazo normal se asocia con aumento del óxido nítrico, de los

lípidos y disminución del TNF α . En preeclampsia, las cifras de presión arterial elevadas coinciden significativamente con disminución del óxido nítrico y aumento del TNF α y sus sTNF α -Rs. El comportamiento de la citocina podría ser una de las causas implicadas en la patología.

Palabras clave: Embarazo. Preeclampsia. Óxido nítrico. Malondialdehído. Perfil lipídico. TNF α , sTNF α -RI, sTNF α -RII.

SUMMARY

A multicentric clinical study was designed with the purpose to measure Nitric oxide, malondialdehyde (MDA), lipid profile and tumor necrosis factor alpha (TNF TNF α) and its receptors p55 and p75 (sTNF TNF α -p55 and sTNF TNF α -p75) in nonpregnant women, normal pregnancy and preeclampsia. Blood samples were collected without anticoagulant from 15 nonpregnant women, 45 pregnant women for each trimester (groups B, C and D), and 15 with PE. Nitric oxide was measured by diazotization assay, the malondialdehyde through barbituric acid reactions, the lipid profile was determined by enzyme assay, TNF TNF α was measured by enzyme linked immunosorbent assay and sTNF TNF α -p55 and sTNF TNF α p75 were measured by amplified immunoenzymometric assay. The statistical analysis was carried out using ANOVA one way with Tukey post test and unpaired t Student test. Nitric oxide values of group D showed a significant raise ($p < 0.001$) with respect to A, B and C, while group E registered a significant fall ($p < 0.001$). The malondialdehyde had similar levels in all groups. Total cholesterol, VLDL and Triglycerids (TG's) showed tendency to raise during pregnancy, with a significant difference ($p < 0.001$) between group D and groups A, B and C, Group E showed significant higher values ($p < 0.01$) than D. The values of TNF α were higher ($p < 0.001$) in nonpregnant women. sTNF α -p55 and sTNF α -p75 reached higher levels in group E ($p < 0.001$). We conclude that Nitric oxide is elevated in normal pregnancy and falls in preeclampsia; malondialdehyde keeps simi-

*Cátedra de Inmunología, Escuela de Medicina de La Universidad del Zulia.

**Cátedra de Historia de la Medicina, Escuela de Medicina de La Universidad del Zulia. Hospital Manuel Noriega Trigo-IVSS, San Francisco-Zulia, Venezuela.

***Cátedra de Inmunología, Escuela de Medicina de La Universidad del Zulia. Maestría en Inmunología Experimental de La Universidad del Zulia.

****Posgrado de Obstetricia y Ginecología MACP-SAHUM, de La Universidad del Zulia.

*****Hospital Manuel Noriega Trigo-IVSS, San Francisco-Zulia, Venezuela.

lar levels in pregnancy and preeclampsia; TG's, total cholesterol, VLDL and LDL are raised with development of pregnancy; TNF α is lower in normal pregnant women than nonpregnant women; TG's, total cholesterol, TNF α , TNF α -p55 and TNF α -p75 are elevated in pregnancy.

Key words: Pregnancy. Preeclampsia, Nitric oxide. Malondialdehyde. Lipid profile. TNF α . sTNF α -p55. sTNF α -p75.

INTRODUCCIÓN

El embarazo como estado fisiológico ha requerido estudios diversos que involucran varios sistemas orgánicos. Es mantenido por mecanismos interactivos que ocurren principalmente en la interfase materno-fetal en el ámbito placentario, y participan sustancias como prostaglandina E₂, gonadotropina coriónica humana, hormonas esteroideas y vasodilatadores fisiológicos entre otros (1).

El óxido nítrico (ON), es un radical libre inorgánico gaseoso, que se origina de la acción de la enzima óxido nítrico sintetasa sobre el aminoácido esencial L-arginina (2,3). A nivel del endotelio vascular, el ON producido por la acción de la óxido nítrico sintetasa III, juega un rol central en el mantenimiento de cifras normales de la presión sanguínea arterial (2,4,5). Además, el ON circulante disminuye la agregación y la adhesión de las plaquetas al endotelio de los vasos (2,6-8).

Durante el embarazo, la elevación del ON inhibe la contractilidad uterina (9-11) y participa en la vasodilatación uteroplacentaria (3,12). Su producción en el útero grávido es favorecido por la presencia de las tres isoformas de la óxido nítrico sintetasa, de las cuales la I y la III son estimuladas por la elevación de los estrógenos (3,13,14).

La preeclampsia (PE) se considera un desorden endotelial difuso, que complica un 6-8% de los embarazos (15-17). Dicha entidad se caracteriza por una resistencia vascular aumentada, vasoconstricción, cambios metabólicos en el ON, lípidos y prostaglandinas, además anomalías en la coagulación (18).

Los estudios realizados en PE, relacionan el aumento de presión arterial y de la agregación plaquetaria, con la inhibición de la síntesis del ON (3,19); sin embargo, los trastornos de este radical en estudios con humanos son controversiales, ya que se han reportado niveles de nitratos plasmáticos con

alteraciones o sin ellas, al compararse con los sujetos controles (3,20-23).

Estudios previos han mostrado niveles elevados de peróxidos lipídicos con el progreso del embarazo normal (24) y anormal (25), lo cual indica cierto grado de estrés oxidativo durante la gestación. Roggensack y col. (22) concluyen que la PE es una enfermedad en la que existe un estrés oxidativo aumentado que conlleva a una disfunción endotelial, en la que el ON reacciona con radicales libres de oxígeno, lo que consume y reduce su efecto vasodilatador. En dicha entidad se han encontrado ácidos grasos libres aumentados y bloqueo de la β -oxidación (26).

El malondialdehído (MDA) o producto final de la peroxidación lipídica, puede servir como marcador del estrés oxidativo y de la injuria tisular mediada por radicales libres de oxígeno (27,28), sin embargo, su estado en el embarazo aún no ha sido establecido con exactitud.

Por otra parte, el feto se considera un aloinjerto en el útero materno, que condiciona una respuesta inmunitaria tipo T2 (29-33). Esto determina cambios que incluyen, además de la disminución de la inmunidad mediada por células, el incremento de la inmunidad humoral, lo cual se ha evidenciado clínicamente por la remisión temporal de la artritis reumatoide y exacerbación del lupus eritematoso sistémico durante la gestación (33).

La aparición común de la PE en las primigestas, su riesgo incrementado con una nueva pareja y reducido cuando la actividad sexual previa tiene mayor duración, sugieren un mecanismo inmunitario como posible responsable de las alteraciones en la placentación (19).

Las alteraciones metabólicas que se describen para PE pudieran explicarse por modificaciones de los patrones normales de producción de citocinas (C) en el embarazo, con una desviación hacia el patrón tipo 1, como son IL-2, INF α y TNF α (34-36). Existe controversia al respecto; Kupfermanc (37) y otros autores (38-41) reportan elevación del TNF α mientras Schiff y col. (42) no han encontrado diferencias con relación a pacientes normotensas.

Los receptores para TNF α (TNF α -Rs) son el tipo I (TNF α -RI) y el tipo II (TNF α -RII), y representan moléculas proteicas de la superficie celular. La liberación de su dominio extracelular, posactivación de los linfocitos T, origina los TNF α -Rs solubles (sTNF α -Rs), que se encuentran presentes en la orina,

el plasma y en los sobrenadantes de los cultivos celulares estimulados. Estas formas solubles se unen al TNF α para antagonizar y controlar los efectos dañinos tisulares que produce la C al incrementar sus concentraciones (43).

Se ha reportado el aumento del TNF α y de peróxidos lipídicos en PE, acompañado de una reducción de los antioxidantes placentarios (24). También se ha implicado la presencia de un alelo específico del TNF α , el TNF α 1, como posible participante de la susceptibilidad genética ante la enfermedad (1).

Por todo lo expresado, se decidió estudiar el ON, el MDA, el perfil lipídico y los niveles séricos de TNF α y sus receptores solubles en pacientes no embarazadas, gestantes normales y con PE, para ampliar los conocimientos sobre el metabolismo normal del embarazo y crear fundamentos para dilucidar los cambios fisiopatológicos de la PE y de esta forma avanzar en lo referente al diagnóstico, pronóstico y tratamiento de esta entidad.

SUJETOS Y MÉTODOS

Se estudiaron en forma prospectiva y analítica a 75 mujeres divididas en cinco grupos de 15 integrantes cada uno: el grupo A conformado por mujeres sin embarazo, los grupos B, C y D por gestantes normales del primero, segundo y tercer trimestre respectivamente y el grupo E por embarazadas en el tercer trimestre con PE. Se utilizaron los criterios descritos por Davey y MacGillivray (44), para definir la PE. Las pacientes fueron seleccionadas en el área de admisión, en la consulta ginecológica y prenatal de la Maternidad "Dr. Armando Castillo Plaza" y del Hospital "Dr. Manuel Noriega Trigo".

A toda mujer en estudio se le extrajeron 25 ml de sangre venosa periférica en tubos sin anticoagulante, se separó el suero por centrifugación a 1 000 g durante 10 minutos. Posteriormente se repartieron en alícuotas colocadas en tubos plásticos, las cuales fueron almacenadas a -70°C, y permanecieron allí hasta su análisis.

El ON se determinó por medio de su producto de degradación, el óxido nitroso, a través del ensayo de diazotización. El MDA se determinó utilizando la formación de compuestos con el ácido tiobarbitúrico. Las determinaciones de triglicéridos (TG's), HDL

colesterol y colesterol total se realizaron mediante métodos enzimáticos colorimétricos (Human). Las valoraciones de las VLDL y las LDL se ejecutaron a través de la ecuación de Friedwald. Como valores referenciales se tomaron los siguientes: colesterol total: 140-200 mg/dl, TG's < 150 mg/dl y HDL > 55 mg/dl.

Para la determinación del TNF α se utilizó un kit de análisis inmunoenzimático de doble anticuerpo (ELISA sandwich). La sensibilidad del mismo fue < 1,7 pg/ml, con una precisión interanálisis < 8,5% e intraanálisis < 5,2%. Con relación a la determinación de los sTNF α -Rs, se utilizó un análisis inmunoenzimático de sensibilidad amplificada (EASIA). La precisión intraanálisis e interanálisis para el sTNF α -RI fue de < 6,5% y < 8,9% respectivamente. Para el sTNF α -RII los valores correspondientes fueron < 1,7% y < 5,7%.

Los valores obtenidos se presentan como media \pm error estándar ($X \pm EE$). El análisis estadístico se realizó mediante el test de ANOVA con post test de Tukey y con la prueba t de Student según correspondiese (45). Se tomó el 95% como índice de confiabilidad estadística ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Las pacientes del grupo E presentaron niveles de presión sanguínea arterial significativamente elevados con respecto al resto de los grupos. Por otra parte, la media de la proteinuria en PE fue de $1,97 \pm 2,44$ g/l en muestra ocasional; los restantes grupos no tenían niveles cuantificables (Cuadro 1).

El ON presentó disminución no significativa en el primer trimestre del embarazo, con aumento progresivo a medida que éste evoluciona y con significación estadística en el tercer trimestre ($p < 0,001$). Al comparar los grupos D y E, se observó un descenso importante de los niveles de ON en la PE ($p < 0,001$) (Cuadro 2).

Se verificó una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,001$) de los valores del TNF α durante todos los trimestres del embarazo al compararlos con los de las mujeres no gestantes. Por otra parte el análisis mediante la t de Student de las pacientes con PE, reveló un aumento significativo del TNF α ($p < 0,01$) con respecto a sus controles del tercer trimestre.

Cuadro 1

Características de los grupos estudiados

Grupos	A	B	C	D	E
Edad (años)	23,93 ± 4,30	20,10 ± 5,72	21,07 ± 4,42	24,93 ± 6,70	22,33 ± 4,98
Edad de gestación (semanas)	---	11,90 ± 3,38 ^{cde}	23,33 ± 4,35 ^{bde}	34,68 ± 4,18 ^{bc}	36,30 ± 3,16 ^{bc}
Presión arterial sistólica (mmHg)	107,30 ± 10,33 ^e	102,00 ± 6,33 ^e	107,00 ± 13,07 ^e	103,70 ± 7,67 ^e	155,30 ± 22,56
Presión arterial diastólica (mmHg)	70,00 ± 8,45 ^e	69,00 ± 11,97 ^e	68,00 ± 8,62 ^e	67,33 ± 7,99 ^e	106,70 ± 10,47
Proteinuria (g/l)	ND	ND	ND	ND	1,97 + 2,44

Los datos se expresan como la media ± desviación estándar

^b p< 0,001 diferencia significativa con grupo B

^c p< 0,001 diferencia significativa con grupo C

^d p< 0,001 diferencia significativa con grupo D

^e p< 0,001 diferencia significativa con grupo E

ND no detectable

Cuadro 2

Concentraciones séricas de ON, TNF, TNF RI y TNF RII

Grupos	A	B	C	D	E
ON (nmol/ml)	14,72 ± 2,18 ^{de}	5,62 ± 1,54 ^{de}	16,28 ± 8,43 ^{de}	105,60 ± 4,21 ^{abce}	6,54 ± 3,44 ^{abcd}
TNFα (pg/ml)	64,51 ± 13,16	17,76 ± 2,76 ^a	19,11 ± 2,34 ^a	7,07 ± 1,63 ^a	16,43 ± 2,92 ^{ag}
sTNFα-RI (ng/ml)	1,69 ± 0,19 ^e	1,58 ± 0,11 ^e	1,77 ± 0,32 ^e	2,69 ± 0,17 ^e	5,18 ± 0,54 ^h
sTNFα RII (ng/ml)	5,00 ± 0,59 ^e	7,38 ± 1,05	5,43 ± 0,68 ^f	5,94 ± 0,27 ^f	9,02 ± 0,66 ⁱ

Los datos se expresan como la media ± error estándar

^a p< 0,001 diferencia significativa con grupo A

^b p< 0,001 diferencia significativa con grupo B

^c p< 0,001 diferencia significativa con grupo C

^d p< 0,001 diferencia significativa con grupo D

^e p< 0,001 diferencia significativa con grupo E

^f p< 0,01 diferencia significativa con grupo E

^g p< 0,01 prueba t: diferencia significativa entre D y E

^h p< 0,0001 prueba t: diferencia significativa entre D y E

ⁱ p< 0,0005 prueba t: diferencia significativa entre D y E

Con respecto al sTNFα-RI, en PE, hubo un aumento significativo de este receptor, al comparar sus valores con lo observado en las no embarazadas, primero y segundo trimestre (p< 0,001) y el tercer

trimestre (p< 0,0001). Mientras que para el sTNFα-RII destaca la elevación significativa (p< 0,0005) de este receptor en las pacientes con PE con respecto al grupo D (Cuadro 2).

ÓXIDO NÍTRICO

Los valores de MDA sufrieron discretas variaciones no significantes durante los diferentes trimestres de la gestación, al compararlos con la mujeres sin embarazo y con PE. Los TG's mostraron niveles elevados en el segundo trimestre, que fueron estadísticamente significantes con relación a las mujeres no embarazadas ($p < 0,01$) y del primer trimestre ($p < 0,05$). Para el tercer trimestre, igualmente hubo una diferencia significativa ($p < 0,001$) al compararse con las mujeres no embarazadas y del primer trimestre. Los valores del grupo E, verificaron una elevación significativa con respecto a los grupos A, B, C ($p < 0,001$), y D ($p < 0,05$) (Cuadro 3).

El valor de colesterol del grupo C mostró una elevación significativa con respecto al grupo A ($p < 0,01$) y junto al grupo D al compararse con el grupo B presentó una diferencia significativa con $p < 0,05$ y $p < 0,01$ respectivamente. Las gestantes con PE, alcanzaron valores elevados al compararse con mujeres no embarazadas ($p < 0,001$) y gestantes normales del primer trimestre ($p < 0,01$).

Al analizar las fracciones de lipoproteínas, se mantiene la tendencia a la elevación en las VLDL y LDL, siendo la primera significativa ($p < 0,001$) en el grupo D, con respecto a los grupos A y B. En PE, las VLDL estuvieron por encima de los grupos A, B y C con una $p < 0,001$. Los niveles de HDL durante todo el embarazo se mantuvieron en el rango de la mujer no embarazada.

Al aplicar la prueba de correlación de Pearson se observó una correlación negativa significativa entre los niveles de ON y la presión sanguínea arterial (Figura 1). Así como una asociación positiva significativa entre los TG's y el colesterol con las VLDL ($r: 0,99$; $p < 0,0001$) y $r: 0,66$; $p < 0,0001$) y las LDL ($r: 0,40$; $p < 0,001$) y $r: 0,91$; $p < 0,0001$).

Los resultados de esta misma prueba, mostraron que existe correlación positiva significativa ($r: 0,5495$ y $r: 0,7066$; $p < 0,001$) entre los sTNF α -RI y RII y las tensiones arteriales sistólica y diastólica (Figuras 2, 3).

Cuadro 3
Concentraciones séricas de MDA, TG's, colesterol, VLDL, LDL y HDL

Grupos	A	B	C	D	E
MDA ($\mu\text{mol/L}$)	2,27 + 0,14	2,70 + 0,31	2,05 + 0,32	1,99 + 0,37	2,68 \pm 0,46
TG's (mg/dl)	93,15 \pm 12,71	109,90 \pm 13,38	173,40 \pm 15,30 ^{e f}	222,60 \pm 15,82 ^{a b}	268,60 \pm 12,11 ^{a b c g}
Colesterol total (mg/dl)	192,50 \pm 9,71	197,40 \pm 10,82	240,70 \pm 10,23 ^{e f}	246,40 \pm 8,95 ^{e d}	254,4 \pm 8,16 ^{a d}
VLDL (mg/dl)	19,62 \pm 2,31	21,90 \pm 2,66	34,67 \pm 3,05 ^{e f}	44,47 \pm 3,18 ^{a b}	52,92 \pm 2,48 ^{a b c}
LDL (mg/dl)	124,20 \pm 8,40	124,70 \pm 8,93	150,50 \pm 8,35	150,70 \pm 7,73	152,10 \pm 8,97
HDL (mg/dl)	48,69 \pm 2,90	50,50 \pm 3,64	55,80 \pm 2,59	51,20 \pm 1,93	50,46 \pm 3,56

Los datos se expresan como la media \pm error estándar

^a $p < 0,001$ diferencia significativa con grupo A

^b $p < 0,001$ diferencia significativa con grupo B

^c $p < 0,001$ diferencia significativa con grupo C

^d $p < 0,01$ diferencia significativa con grupo B

^e $p < 0,01$ diferencia significativa con grupo A

^f $p < 0,05$ diferencia significativa con grupo B

^g $p < 0,05$ prueba t: diferencia significativa entre D y E

DISCUSIÓN

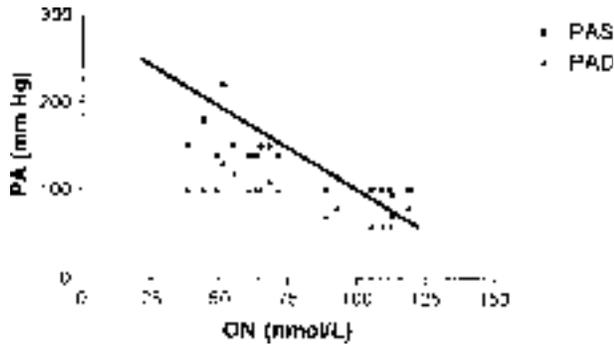


Figura 1. Correlación entre ON y PAS-PAD.

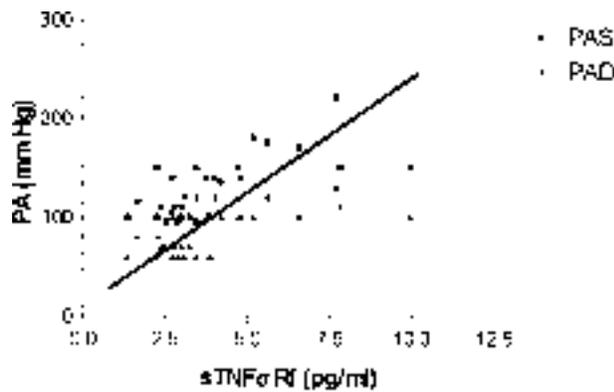


Figura 2. Correlación entre sTNFα RI y PAS-PAD.

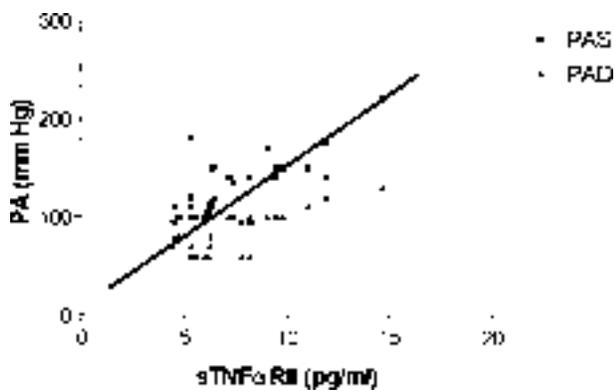


Figura 3. Correlación entre sTNFα RII y PAS-PAD.

El embarazo induce diversos cambios en el metabolismo celular, y puede incluso aumentar en algunas circunstancias la producción de radicales libres, tanto de oxígeno como relacionados con el nitrógeno. En condiciones normales este proceso es regulado por diversos mecanismos donde participan el glutatión, el óxido nítrico y el sistema de la superóxido dismutasa entre otros (2).

Los resultados de la presente investigación demuestran una elevación significativa del ON en el embarazo, específicamente en el tercer trimestre, con respecto a las mujeres no embarazadas. Este comportamiento es el responsable de la relajación uterina a través de la vía metabólica ON-GMPc que permite el desarrollo y el mantenimiento de la gestación (2,12), por otra parte también determina la disminución fisiológica de las cifras de presión sanguínea arterial descrita para este estado, confirmado ante la correlación negativa significativa entre ambas (2,3,9).

La disminución significativa de los niveles de ON, en las gestantes complicadas con PE de este estudio, respecto a las embarazadas normales del tercer trimestre, ha sido reportado por otros autores (3,11,19,23,46,47). Aunado a la correlación negativa significativa entre el ON y la presión sanguínea arterial, indica que la caída de los niveles de esta molécula sería uno de los factores condicionantes de la aparición de la hipertensión arterial en la PE.

López-Jaramillo (48) ha reportado un aumento del nitrato en mujeres embarazadas con PE, indicador de las concentraciones elevadas del ON. Sin embargo, detectó niveles bajos de GMPc, por lo cual se deduce la inactivación del ON antes de lograr sus efectos biológicos.

La presente investigación reveló que los valores del MDA no sufrieron variaciones significantes durante la evolución del embarazo, se mantienen en niveles entre 1,99 y 2,70 $\mu\text{mol/l}$, lo que indica que los mecanismos compensadores fueron, en esta muestra, suficientes para impedir la peroxidación lipídica, de manera similar a la mujer no embarazada. Los datos de este estudio permiten establecer valores referenciales, ya que no se habían medido con anterioridad. En la PE los niveles de MDA, se mantuvieron dentro de los límites obtenidos en el embarazo normal, por lo cual se infiere que no se presentó incremento de la peroxidación lipídica debido a que funcionaron los mecanismos de

eliminación de los peróxidos. Por otra parte su correlación positiva con el colesterol y las LDL, demuestra su dependencia del metabolismo lipídico.

Con respecto a los lípidos, se detectó aumento en los niveles de TG's, colesterol y VLDL durante la evolución del embarazo normal. Este incremento de lípidos aporta a la madre una fuente energética valiosa, tanto para el mantenimiento de su metabolismo basal, como para favorecer el desarrollo del producto, quien necesitará de fuentes lipídicas para la construcción de sus membranas celulares.

En la PE se observó un aumento significativo en los niveles séricos de TG's y colesterol total, lo cual supone una exacerbación de la síntesis de TG's intrahepáticos, con aumento en la producción de VLDL. Sattar (26) describe en PE que la β -oxidación y la lipólisis de VLDL están afectadas, lo que determina depósito de los TG's en los hepatocitos. La correlación entre TG's y colesterol total con VLDL y LDL es ampliamente conocida, y se explica porque los primeros forman parte de las segundas.

El TNF α ha sido involucrado como una de las principales C en la inmunología del embarazo, describiéndose un aumento en el segundo trimestre, y luego una disminución en el tercer trimestre, tanto de la C como de su sTNF α -RII (49). Se cree que el TNF α juega un papel importante en la limitación de la invasión del trofoblasto en los vasos sanguíneos de la decidua materna, que modula su crecimiento y controla el desarrollo placentario; promueve la adaptación de la madre al aloinjerto fetal (1,37,50).

En este estudio se encontró que las cifras circulantes de TNF α variaban entre los distintos grupos. Al iniciarse el embarazo, se verificó una caída significativa de los niveles séricos, como era de esperar, en virtud de tener esta C cierto efecto nocivo sobre el embarazo. Durante el mismo, se observó un aumento discreto en el segundo trimestre, el cual se cree controla el crecimiento placentario; por último en el tercer trimestre se evidenciaron los niveles más bajos. Estos hallazgos son similares a los descritos en la literatura (38,49,51,52) y favorecen el desarrollo de la gestación. En el grupo con PE, se encontraron niveles significativamente elevados de TNF α con respecto a sus controles no complicados, lo cual confirma lo establecido en reportes anteriores (1,23,35,53-55).

Austgulen y col. (56) han demostrado, que sólo cantidades elevadas del TNF α , liberadas en condiciones patológicas pueden incrementar la liberación de la forma soluble de sus receptores;

estos resultados coinciden con el presente estudio, donde los niveles séricos de los sTNF α Rs durante el embarazo se mantienen dentro de los valores de las mujeres no embarazadas; sin embargo, el grupo con PE presenta valores significativamente altos en comparación con todos los grupos, debido a una elevada actividad del TNF α . Se verificó la correlación positiva entre el TNF α y sus sTNF α -Rs, manteniéndose la asociación entre sus niveles durante el embarazo, y aumentando los sTNF α -Rs en PE, como mecanismo de respuesta ante la elevación patológica de la C.

El TNF α se encuentra elevado en PE, lo cual es un hallazgo importante en virtud de su participación en el daño y disfunción endotelial y otras alteraciones metabólicas, que coinciden con la liberación aumentada de los sTNF α -Rs, por lo cual estos pudieran ser considerados marcadores biológicos de la actividad de esta C.

Puede concluirse que estos cambios metabólicos en PE son condicionados por la misma fuente fisiopatológica, la cual, indudablemente se trata de una alteración de la respuesta inmunitaria ante el producto de la gestación y su efecto sobre la producción del TNF α , el que se constituye en el foco de todos estos hallazgos, confirmado por el hecho de que el TNF α inestabiliza la óxido nítrico sintetasa III (57), es responsable de la disminución del ON y con ello de la elevación de la presión sanguínea arterial.

Finalmente, sería interesante realizar estudios longitudinales que incluyan la determinación del TNF α y sus sTNF α -Rs en pacientes de alto riesgo para la PE, desde el inicio y hasta la culminación del embarazo, y además estudiar mecanismos de oxidación-antioxidación y del metabolismo lipídico en gestantes normales y con PE, en los cuales se incluya la determinación de vitamina C, glutatión, ácidos grasos libres, LDL oxidada, tocoferol, estrógenos y progesterona.

REFERENCIAS

1. Dekker G, Sibai B. The immunology of preeclampsia. *Semin Perinatol* 1999;23(1):24-33.
2. Liaudet L, García-Soriano F, Szabo C. Biology of nitric oxide signaling. *Crit Care Med* 2000;28:37-52.
3. Morris N, Eaton B, Dekker G. Nitric oxide, the endothelium, pregnancy and preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1999;103: 4-15.

4. Fortermann O, Schmidt H, Pollock JS. Isosforms of nitric oxide syntetase: Characterization and purification from cliffarer cell types. *Biocitem Pharmacol* 1991;42:1849-1857.
5. Vane J, Anggard E, Botting R. Mechanism of disease. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med* 1990;323:27-36.
6. Ignarro LJ, Kadwitz PJ. The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation. *Ann Reu Pharmacol Toxicol* 1985;25:171-191.
7. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS. Endotelium derived relaxin factor produced and release from artery and vein is metric oxide. *Porc Natl Acad Sci* 1987;84:9265-9269.
8. Matheis G, Sherman NP, Buckner GD. Role of L-arginine-nitric oxide pathway in myocardial reoxygenation injury. *Am J Phisiol* 1992;262:H616-H620.
9. Conrad KP, Joffe GM, Kruszyna H. Identification of increased nitric oxide biosynthesis during pregnancy in rats. *FASAB J* 1993;7:566-571.
10. Conrad KP, Vernier KA. Plasma level, urinary excretion and metabolic production of cGMP during gestation in rats. *Am J Phisiol* 1989;257:R847-R853.
11. Yallampali C, Garfield R. Inhibition of nitric oxide sintesis in rats during pregnancy produces signs similar to those of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1993;169:1316-1320.
12. Yallampali C, Izumi H, Byam-Smith M, Garfield R. Nitric oxide inhibits uterine contractility during pregnancy but not during delivery. *Endocrinology* 1993;133:1899-1902.
13. Fang L, Nowicki B, Dong YL, Yallampali C. Localized increase in nitric oxide production and the expression of nitric oxide synthase isoforms in rat uterus with experimental intrauterine infection. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:601-609.
14. Weeks A, Massmann A, Monaghan J, Crowther D, Duffy S, Walker J, Figueroa J. Decreasing estrogen in nonpregnant women lowers uterine myometrial type I nitric oxide synthase protein expression. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:25-30.
15. Iwatani Y, Watanabe M. The maternal immune system in health and disease. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. 1998;10:453-458.
16. Lara A, García A, Macías E, Alpuche G. Mortalidad materna por eclampsia: 5 años de revisión. *Ginecología y obstetricia de México* 1999;67:253-257.
17. Sibai B, Ewell M, Levine R, Klebanoff M, Esterlitz J, Ctalano P, et al. Risk factors associated with preeclampsia in helthy nuliparous women. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:1003-1010.
18. Redman C, Roberts J. Pre-eclampsia: More than pregnancy-induced hypertension. *The Lancet* 1993; 341(5):1447-1451.
19. Ness R, Roberts J. Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: A hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:1365-1370.
20. Brown MA, Tibben E, Zammit VC, Cario GM, Carlton MA. Nitric oxide excretion in normal and hypertensive pregnancies. *Hypertens Pregn* 1995;14: 319-326.
21. Friedman SA, Lubarsky SL, Ahokas RA, Nova A, Sibai BM. Preeclampsia and related disorders: Clinical aspects and relevance of endothelin and nitric oxide. *Clin Perinatol* 1995;22:343-355.
22. Roggensack A, Zhang Y, Davidge S. Evidence for peroxynitrite formation in the vasculature of women with preeclampsia. *Hypertension* 1999;33:83-89.
23. Vedernikov Y, Saade G, Garfield R. Vascular reactivity in preeclampsia. *Semin Perinatol* 1999;23:34-44.
24. Stark JM. Pre-eclampsia and cytokine induced oxidative stress. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100:105-109.
25. Wickens D, Wilkins MH, Lunec J, Ball G, Dormandy TL. Free radical oxidation (peroxidation) products in plasma in normal and abnormal pregnancy. *Am Clin Biochem* 1981;18:158-162.
26. Sattar N, Gaw A, Packard CJ, Greer JA. Potential pathogenic roles of aberrant lipoprotein and fatty acids metabolism in preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1996;103:614-620.
27. Fukunaga K, Takama K, Suzuki T. High-performance liquid chromatographic determination of plasma malondialdehyde level without a solvent extraction procedure. *Anal Biochem* 1995;230:20-23.
28. Lepage G, Muñoz G, Champagne J, Roy CC. Preparatives steps necessary for the accurate measurement of malondialdehyde by high-performance liquid chromatography. *Ann Biochem* 1991;197:277-283.
29. Dekker G, Sibai B. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: Currents concepts. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:1359-1375.
30. Lin H, Guilbert L, Wegmann T, Tuntipopipat S, Mosmann T. Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. *J Immunol* 1993; 151(9):4562-4573.
31. Marzi M, Vigano A, Trabattoni D, Villa ML, Salvaggio A, Clerici E, Clerici M. Characterization of type 1 and type 2 cytokine production profile in physiologic and pathologic human pregnancy. *Clinical and experimen-*

- tal immunology. 1996;106:127-133.
32. Steinborn A, Von Gall C, Hildenbrand R, Stutte H, Kaufmann M. Identification of placental cytokine-producing cells in term and preterm labor. *Obstetrics and Gynecology* 1998;91(3):329-335.
 33. Wegmann T, Lin H, Guilbert L, Mosmann T. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: Is successful pregnancy a Th2 phenomenon? *Immunology Today* 1993;14(7):353-356.
 34. Denise B. Cytokines. *Advanc Obstet Gynecol* 1996;3:27-46.
 35. Dudley D. Is pre-eclampsia a Th-1-type immune condition? *J Reproductive Immunol* 1997;34:159-161.
 36. Molina-Vílchez R, Romero-Adrián T, Ruiz A. Citocinas en la fisiopatología de la preeclampsia. *Gac Méd Caracas* 1999;107(4):505-516.
 37. Kupfermanc M, Peaceman A, Wigton T, Tamura R, Rehnberg K, Socol M. Tumor necrosis factor- α is elevated in plasma and amniotic fluid of patients with severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:1752-1759.
 38. Conrad KP, Miles TM, Benyo DF. Circulating levels of immunoreactive cytokines in women with preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 1998;40(2):102-111.
 39. Estellés A, Gilabert J, Grancha S, Yamamoto K, Thinnis T, España F, et al. Abnormal expression of type 1 plasminogen activator inhibitor and tissue factor in severe preeclampsia. *Thromb Haemost* 1998;79:500-508.
 40. Kupfermanc M, Peaceman A, Wigton T, Tamura R, Rehnberg K, Socol M. Immunoreactive tumor necrosis factor- α is elevated in maternal plasma but undetected in amniotic fluid in the second trimester. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:976-979.
 41. Stark M, Jones SJ, Johansen K, Blake L, Shaw R. Tumor necrosis factor. *Lancet*. 1995;345:649-649.
 42. Schiff E, Friedman S, Baumann P, Sibai B, Romero R. Tumor necrosis factor- α in pregnancies associated with preeclampsia or small-for-gestational-age newborns. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:1224-1229.
 43. Aderka D, Engelman H, Wysenbeek AJ, Levo Y. The possible role of tumor necrosis factor (TNF) and its natural inhibitors, the soluble-TNF receptors, in autoimmune diseases. *Isr J Med Sci* 1992;28:126-130.
 44. Davey DA, MacGillivray I. The classification and definition of hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1988;158:892-898.
 45. Sanabria C, Núñez J. Pautas metodológicas en investigación biomédica. Maracaibo: Servicio Autónomo Imprenta del Estado Zulia, 2001.
 46. Molnar M, Hertelendy F. N-nitro-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthesis, increases blood pressure in rats and reverses the pregnancy-induced refractoriness to vasopressor agents. *Am J Obstetrics Gynecol* 1994;170:1458-1466.
 47. Podjarny E, Baylis C Y Losonczy G. Animal models if preeclampsia. *Semin Perinatol* 1999;23(1):2-13.
 48. López-Jaramillo P: Role of L-arginine-nitric oxide pathway in normal pregnancy and preeclampsia. *J Physiol* 2000:435-523.
 49. Beckman I, Visser W, Strujik P, Van Dooren M, Glavimans J, Wallemburg H. Circulating bioactive tumor necrosis factor- α , tumor necrosis factor- α receptors, fibronectin, and tumor necrosis factor- α inducible cell adhesion molecule VCAM-1 in uncomplicated pregnancy: *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:1247-1252.
 50. Vince G, Johnson P. Is there a Th2 bias in human pregnancy? *J Reprod Immunol* 1996;32:101-104.
 51. Molina-Vílchez R, Romero-Adrián T, Ruiz A, González E, Estévez J, Atencio R. Concentraciones séricas de factor de necrosis tumoral-alfa en el embarazo normal. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1999;59(3):167-171.
 52. Szekeres-Bartho J, Wegmann TG. A progesterone-dependent immunomodulatory proteins alters the th1/th2 balance. *J Reprod Immunol* 1996;31:81-95.
 53. Fairchild D, Miles T y Conrad K: Hypoxia stimulates cytokine production by villous explants from de human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1582-1588.
 54. Rinehart B, Terrone D, Lagoo-Deenadayalan S, Barber W Hale E, Martin J, et al. Expression of the placental cytokines tumor necrosis factor alpha, interleukin 1 beta and interleukin 10 is increased in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:915-920.
 55. Villanueva L, Pedernera E, García-Lara E. Bases fisiopatológicas de la preeclampsia: una hipótesis. *Ginecol Obstet México* 1999;67:246-252.
 56. Austgulen R, Johnsen H, Kjollesdal A, Liabakk N, Espevik T. Soluble receptors for tumor necrosis factor: Occurrence in association with normal delivery at term. *Obstet Gynecol* 1993;82:343-347.
 57. Drexler H. Hipertensión, insuficiencia cardíaca y función endotelial. *Am J Cardiol* 1998;82(Supl 10A):20-22.