

Universidad de Valparaíso
Facultad de Medicina
Escuela de Obstetricia y Puericultura
Casa Central

**“Relación entre el Doppler de Arterias Uterinas y la
presencia de STAT3 y SOCS3 en placentas de mujeres
con Preeclampsia Tardía del Hospital Carlos Van Buren
de Valparaíso en el año 2012”**

Tesis para obtener el Grado de Licenciado/a en Obstetricia y Puericultura

Profesor Guía:

Dr. Sebastián San Martín

Estudiantes:

Nicolle Araya Chávez

Lorena Bravo Aguayo

Scarlet Jara Triviño

Javiera López Olivares

Camila Carrasco Cartagena

Nataly Valdés Muñoz

Valparaíso, 2014

ÍNDICE

Resumen	i
I. Introducción	1
• Problema de Investigación	2
• Fundamentación del problema de investigación	2
II. Material y método	4
a. Diseño de la investigación	4
b. Método	4
• Estudio inmunohistoquímico de STAT3 y SOCS3	4
• Estudio morfológico placentario	5
2.1 Población de Estudio	6
2.1.1 Determinación del universo y la muestra	6
2.1.2 Criterios de inclusión y exclusión de la población de estudio	6
2.2 Fuentes de información	7
2.3 Recolección de datos	7
III. Resultados	8
IV. Discusión	13
V. Agradecimientos	18
VI. Referencias Bibliográficas	19
VII. Datos suplementarios	25
1. Glosario de términos, siglas y abreviaciones	25
2. Marco teórico	26
• Capítulo I: Placentación	26
• Capítulo II: Síndromes Hipertensivos del embarazo	33
• Capítulo III: Vía JAK/STAT	41
3. Matriz de operacionalización de objetivos	49
4. Hipótesis	52
5. Método	52
6. Resultados	55

RESUMEN

La Preeclampsia tardía es un trastorno hipertensivo del embarazo que se manifiesta a partir de las 34 semanas de gestación, caracterizado por un aumento de las cifras tensionales que se asocia a proteinuria, cefalea, edema, tinitus, fotopsia, epigastralgia, entre otros signos y síntomas clínicos, lo que conlleva a un daño multisistémico.

Ocupa alrededor del tercer al sexto lugar entre las principales causas de muerte materna, cuya prevalencia fluctúa entre el 7 y 10%, siendo una importante causa de mortalidad materna.

Dentro de los métodos de tamizaje y predicción de preeclampsia se encuentra la ultrasonografía Doppler de arterias uterinas. Éste, al encontrarse alterado, se asocia a un aumento en la producción de proteínas claves (STAT3 y SOCS3) que actúan en la vía de señalización JAK/STAT.

El objetivo principal de esta investigación es determinar la relación entre el Doppler de arterias uterinas y la presencia de STAT3 y SOCS3 en placentas de mujeres con Preeclampsia Tardía del Hospital Carlos Van Buren de Valparaíso. Para ello se realizó un estudio inmunohistoquímico donde se determinó la presencia de estas proteínas.

Se descubrió que en aquellas placentas con preeclampsia tardía con doppler de arterias uterinas alterado, hubo una disminución en la producción de proteínas STAT3 y SOCS3, asociado a una hipotrofia placentaria.

I. INTRODUCCIÓN.

El síndrome hipertensivo del embarazo es una de las patologías crónicas con mayor incidencia en países desarrollados y en vías de desarrollo. Es una enfermedad de gran importancia, ya que sus complicaciones pueden producir la muerte de la madre y/o del feto o recién nacido. Se le llama síndrome hipertensivo porque las diferentes patologías hipertensivas tienen diversas causas y expresiones. En base a esto, el síndrome se clasifica en preeclampsia y eclampsia; hipertensión inducida por el embarazo, que puede ser de causa conocida o desconocida, con o sin preeclampsia sobreagregada e; hipertensión arterial transitoria. De éstas, la preeclampsia y la eclampsia son las que generan mayor morbi-mortalidad materno-fetal y su etiología es producto de una placentación anormal. Las alteraciones en la placentación pueden ser evidenciadas por una serie de mecanismos que incluyen la metodología del Doppler de arterias uterinas, lo cual es utilizado actualmente como un indicador de pronóstico tanto materno como fetal de esta condición patológica.

Dado a que es una patología en donde cada año surgen nuevos casos y, además, la tasa de natalidad va disminuyendo, se ha convertido en un tema de alto interés médico y obstétrico, del cual se han desplegado diversas investigaciones para lograr determinar diversos aspectos relacionados con la enfermedad. Hoy en día la búsqueda de nuevos marcadores que permitan establecer con mayor precisión el grado de daño placentario en la preeclampsia, así como la relación con otros marcadores como el Doppler de arterias uterinas, serán claves para una mayor comprensión de esta condición clínica.

Entre estos factores, es de interés determinar la presencia de proteínas claves para la fisiología placentaria, dentro de las cuales se encuentran el sistema de señalización JAK/STAT (STAT3 y SOCS3). Es por ello que, el objetivo principal de esta investigación, es determinar la relación entre el Doppler de arterias uterinas y la presencia de proteínas de la vía JAK/STAT (STAT3 y SOCS3) en placentas de pacientes diagnosticadas con preeclampsia Tardía del Hospital Carlos Van Buren de Valparaíso en el año 2012.

Problema de Investigación

¿Cuál es la relación entre el Doppler de arterias uterinas y la presencia de STAT3 y SOCS3 en placentas de mujeres con Preeclampsia Tardía del Hospital Carlos Van Buren de Valparaíso en el año 2012?

Fundamentación del Problema de Investigación.

El síndrome hipertensivo del embarazo (SHE) es una patología característica del embarazo humano que provoca un daño multisistémico y que incluye varias entidades patológicas. De esta forma, el síndrome hipertensivo se clasifica en: Hipertensión inducida por el embarazo, esencial o secundaria, con o sin preeclampsia sobre agregada; hipertensión arterial transitoria y; preeclampsia y eclampsia, donde la preeclampsia constituye un problema de salud pública, porque incide significativamente en las tasas de morbilidad y mortalidad materna perinatal a nivel mundial, llegando a convertirse en la complicación médica más frecuente del embarazo y considerando, además, que es la patología precursora de la eclampsia.

Su incidencia oscila entre el 2% al 10% de las gestantes. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que la incidencia de preeclampsia es siete veces mayor en los países en vías de desarrollo que en los desarrollados (2,8% y 0,4% de los nacidos vivos respectivamente), lo que refleja inequidad en los accesos a los servicios de salud y una larga brecha entre ricos y pobres.

En Chile, la preeclampsia es identificada como un problema de salud pública. Para ello, se han fortalecido sus sistemas y mejorado el acceso de la madre al personal de salud capacitado; sin embargo, no se han realizado los estudios necesarios para comprender las causas y mejorar las estrategias preventivas.

El síndrome hipertensivo del embarazo con sus variantes clínicas, constituyen una de las complicaciones médicas más frecuentes, ocupando alrededor del tercer al sexto lugar entre las principales causas de muerte materna.

Por otra parte, la prevalencia de preeclampsia fluctúa entre el 7 y 10%, siendo una importante causa de mortalidad materna, fetal y neonatal en nuestro país. Es por ello que esta patología debe ser detectada y tratada adecuadamente antes del comienzo de convulsiones (eclampsia) y otras complicaciones que ponen en riesgo la vida de la madre y su hijo. Por esta razón, existen métodos de tamizaje y predicción de preeclampsia, como son los factores de riesgo y la ultrasonografía Doppler de arterias uterinas.

Actualmente, sólo los factores de riesgo son los que inicialmente determinan la direccionalidad de la anamnesis a las gestantes que están en control en Atención Primaria de Salud (APS), para la detección de patologías como son los síndromes hipertensivos más el examen físico en cada uno de estos controles. La derivación para estudio de este cuadro clínico, al nivel secundario de atención, sólo se realiza cuando en control de APS o en la asistencia a la Unidad de Emergencia Gineco-Obstétrica (UEGO) se pesquisan cifras tensionales elevadas; sin embargo, ¿existirá otro método de predicción más exacto y acotado a este cuadro clínico que pueda complementar y detectar de forma precoz la aparición de preeclampsia? Es una interrogante a la que se pretende dar respuesta, dado que pudrían existir mediadores moleculares que se encuentren alterados al momento de desarrollar una preeclampsia y que, quizás, pudiesen presentarse de forma temprana, como son la presencia de proteínas llamadas STAT3 y SOCS3.

El objetivo principal de esta investigación es determinar la relación entre el doppler de arterias uterinas y la presencia de proteínas de la vía JAK/STAT (STAT3 y SOCS3) en placentas de pacientes diagnosticadas con Preeclampsia Tardía del Hospital Carlos Van Buren de Valparaíso en el año 2012.

II. MATERIAL Y MÉTODO.

2.1 Diseño de la Investigación: El diseño de investigación corresponde a un estudio descriptivo relacional, dado que los datos obtenidos de los tejidos histológicos fueron proporcionados al momento del análisis de las fotografías obtenidas mediante microscopía. Además se describió lo observado en las imágenes y los resultados inmunohistoquímicos, los cuales fueron comparados con datos obtenidos de los índices de pulsatilidad del doppler de arteria uterina de un estudio previo realizado por el mismo director de tesis, en colaboración con la Unidad Materno-Infantil del Hospital Carlos Van Buren.

2.2 Método:

- Estudio inmunohistoquímico de STAT3 y SOCS3: La presencia de STAT3 y SOCS3 se estudió en muestras tisulares de cotiledones centrales y periféricos de las placentas sometidas a estudio morfológico. Se estudiaron 24 placas histológicas correspondientes a placentas de madres con diagnóstico de Preeclampsia Tardía, las cuales fueron incluidas en tacos de parafina, tanto del sector central y periférico del tejido. Éstas fueron enfriadas previamente, para luego ser cortadas en el micrótomos Leitz a 5 micrones. Cada corte extraído fue llevado a una fuente con agua destilada y alcohol al 90% y luego a un baño de agua destilada a 40 °C, para estirar el corte. En los portaobjetos con Xilano, se colocaron 2 cortes por cada muestra, las cuales fueron llevadas a un protocolo de inmunohistoquímica con anticuerpos anti-SOCS3 y anti-STAT3, según protocolo del laboratorio CON previa desparafinación, rehidratación y recuperación antigénica de las muestras. Se realizó bloqueo de peroxidasa endógena y sitios inespecíficos y, se procedió a incubación de las muestras con anticuerpo primario anti-STAT3 y anti-SOCS3 diluido en 1:50 y 1:250 en PBS/Tween20, respectivamente y, posteriormente, con anticuerpo secundario Anti-IgG de

conejo, hecho en cabra, conjugando con HRP, diluido a 1:500 en PBS. La unión antígeno-anticuerpo fue revelada con el kit Nova Red y, posteriormente, se realizó tinción breve con hematoxilina, para así generar contraste nuclear.

- Estudio morfológico placentario: Se realizó estudio histopatológico en placentas de casos con Preeclampsia Tardía sin otra comorbilidad, con y sin Doppler de arteria uterina alterado y de placentas de pacientes con embarazos fisiológicos de término. Todas las evaluaciones fueron realizadas por el mismo anatomopatólogo, el cual permaneció oculto a la historia y resultados clínicos.

Las placentas fueron fijadas inmediatamente después del parto en formalina al 10% y llevadas al departamento de anatomía patológica, donde fueron pesadas, con previa remoción de las membranas (corion y amnios) y del cordón umbilical. Para cada placenta se tomaron muestras tisulares de cotiledones centrales, cercanos a la inserción del cordón umbilical y, periféricos, cercanos a las membranas ovulares. Las muestras fueron deshidratadas en series de etanol e incluidas en parafina. Los cortes se realizaron con micrótopo en secciones de 5 micrones. Las placas fueron codificadas permaneciendo ocultas para la información clínica.

En el análisis comparativo se incluyó el peso de las placentas con su percentil de peso según edad gestacional (EG), catalogándose como placenta hipotrófica aquella con percentil <10 para la edad gestacional. Los hallazgos histológicos fueron categorizados según la clasificación propuesta por la Federación Internacional de Placenta, en alteraciones vasculares fetales, alteraciones vasculares maternas y alteraciones inflamatorias.

Además, se realizó evaluación morfológica de la proporción de capilares por vellosidad a través del cálculo del índice capilar/vellosidad (ICV). Para cada placenta se evaluaron 10 campos aleatorios de las muestras tanto centrales como periféricas con objetivo de 100X y se calculó el ICV con la siguiente fórmula: Número Total de Capilares / Número Total de Vellosidades.

2.3 Población de Estudio.

2.3.1 Determinación del universo y la muestra.

- Universo: 58 placentas de mujeres que ingresaron con el diagnóstico de Preeclampsia Tardía en la Unidad de Medicina Materno Fetal del Hospital Carlos Van Buren de Valparaíso entre Agosto del año 2011 hasta Diciembre del año 2012.
- Muestra: 19 placentas de pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión para nuestro estudio. De estas 19 placentas, 12 fueron seleccionadas para análisis, donde 6 poseían los datos de Doppler alterado y 4 de Doppler normal, 2 muestras no fueron consideradas por falta de información y por no estar dentro del criterio de inclusión.

2.3.2 Criterios de inclusión y exclusión de la población de estudio: Todos los embarazos tenían edad gestacional segura, documentada con ecografía realizada en el primer trimestre de gestación.

a. Criterios de Inclusión:

- Presencia de PE definida según los criterios diagnósticos de la Sociedad Internacional para el Estudio de la Hipertensión del Embarazo (ISSHP).
- Edad gestacional mayor o igual a 34 semanas al momento del diagnóstico de PE.
- Poseer datos de Doppler de Arteria Uterina correspondiente.

b. Criterio de Exclusión:

- Gestaciones fisiológicas.
- Presencia de malformaciones fetales incluyendo infecciones o síndromes genéticos.
- Embarazos Múltiples.
- Gestantes con otras patologías asociadas diferentes a Preeclampsia Tardía.
- Hábito de alcohol, drogas y tabaco.
- RCIU no asociado a Preeclampsia Tardía.

2.4 Fuentes de Información.

- Unidad de Estudio: Placentas de mujeres diagnosticadas con Preeclampsia Tardía con y sin Doppler alterado.
- Unidad Informante: Fichas clínicas, placentas de madres con Preeclampsia Tardía y datos de doppler de arteria uterina.
- Unidad Referencial: Unidad de Medicina Materno Fetal del Hospital Carlos Van Buren de Valparaíso.

2.5 Recolección de Datos: Como herramienta se utilizará un formulario, el cual se aplicará con la finalidad de llevar un registro de los datos obtenidos de las fichas clínicas de las usuarias seleccionadas para la presente investigación y de los resultados conseguidos de las Muestras procesadas (Anexo 1).

III. RESULTADOS

Perfil clínico de las gestantes.

En respuesta a los objetivos, el universo del estudio, es decir, 58 gestantes con diagnóstico de preeclampsia tardía, corresponden a una muestra con distribución normal. La edad gestacional promedio al ingreso fue de 36,5 semanas (rango 34 - 40) y la edad materna promedio fue de 27,7 años (rango 15 – 42), siendo la mitad de las participantes primigestas (n=30; 51.7%). El IMC promedio de las pacientes fue de 33,7 kilos/metros² (rango 22–44), de los cuales 47 casos (81%) presentaron obesidad y, 15 casos (25,8%) presentaron otras comorbilidades como Hipertensión Arterial Crónica (HTAc) o Diabetes Gestacional. El grupo de estudio incluyó 27 (46,6%) pacientes con Doppler de Arterias Uterinas (DAU) alterado al momento del diagnóstico y 31 (53,4%) con Doppler normal (Tabla N°1)(1).

Tabla N°1: Características demográficas y obstétricas de las pacientes estudiadas.

Características Generales	Total de Pacientes con Preeclampsia Tardía N=58	Preeclampsia Tardía con Doppler de Arterias Uterinas alterado N=27	Preeclampsia Tardía con Doppler de Arterias Uterinas normal N=31	Valor de p.
Edad Materna- Años	27,7 (±7,2)	25,4 (±7,2)	29,0 (±6,9)	0,05
Nuliparidad – N° (%)	30 (51,7%)	14 (51,8%)	16 (51,61%)	0,98
Índice de Masa Corporal	33,7 (±5,1)	34,7 (±4,9)	32,7 (±5,1)	0,13
Comorbilidad Materna (HTAc, DG)	15 (25,8%)	5 (18,5%)	10 (32,2%)	0,378
Edad Gestacional al diagnóstico- semanas	36,5 (±1,5)	35,9 (±1,3)	37,1 (±1,4)	<0,01
IP Doppler Arterias Uterinas al diagnóstico	0,96 (±0,3)	1,24 (±0,23)	0,71 (±0,14)	<0,0001

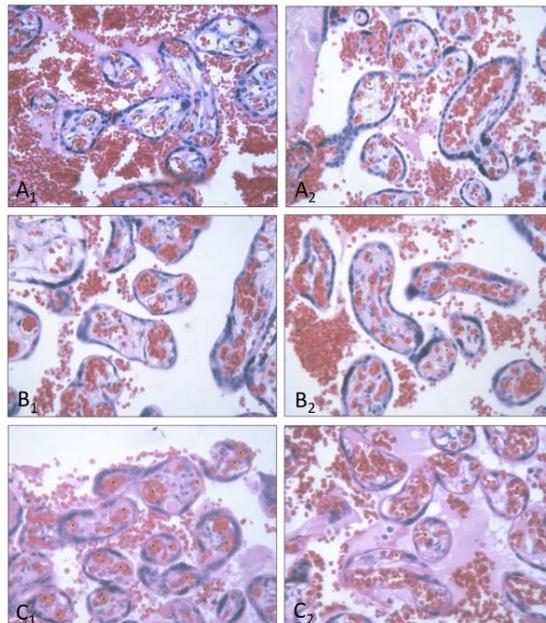
*Tabla modificada a partir de Apoptosis placentaria en pacientes con preeclampsia tardía y Doppler de arterias uterinas alterado (1).

Estudio Morfológico Placentario.

Respecto a las características morfológicas de las placentas, 58 de ellas que correspondían a madres con preeclampsia tardía, se excluyeron 15 del estudio histológico, ya que presentaban comorbilidad materna como HTAc o Diabetes gestacional.

El promedio de peso placentario fue de 477,1 gramos ($DE \pm 152,2$), de las cuales 13 fueron catalogadas como hipotróficas. Respecto al análisis morfológico, el 40% presentó lesiones vasculares maternas y 28% lesiones vasculares fetales. No se identificaron lesiones inflamatorias. El promedio del Índice Capilar / Vellosidad fue de 3,44 ($DE \pm 0,55$) (Figura N°1) (1).

Figura N°1: Evaluación del Índice Capilar / Vellosidad (ICV). Biopsias de placentas en las cuales se calculó el (ICV) con la siguiente fórmula: Número Total de Capilares / Número Total de Vellosidades. En A se observan cortes de una placenta con PET y DAU alterado, en B una placenta con PET y DAU normal y en C una placenta control, sin PET. (Hematoxilina Eosina, 100X).



**Imagen obtenida a partir de placentas obtenidas de pacientes con preeclampsia tardía y Doppler de arterias uterinas alterado (1).*

Haciendo un análisis más exhaustivo acerca de los datos morfológicos, se puede decir que cuando existe preeclampsia tardía y, además hay un doppler alterado, el peso de la placenta disminuye en comparación con aquellas con doppler normal. Asimismo, hay un mayor porcentaje de placentas bajo el p10 cuando el doppler está alterado.

En relación al número de vellosidades presentes en las placentas, según el corte histológico periférico y central, en ambos tipos de corte existe un aumento en el número de vellosidades placentarias cuando hay preeclampsia tardía y el doppler está alterado; sin embargo, no constituye significancia estadística (Tabla N°2) (1).

Tabla N°2: Resultados del análisis histológico placentario según presencia de PET y DAU alterado. Significancia estadística determinada por Test de Fisher para variables cualitativas y Wilcoxon para variables cuantitativas.

Análisis placentario	Preeclampsia tardía con doppler alterado Arterias uterinas alterado N=10	Preeclampsia tardía con doppler Arterias uterinas normal N=9	Significancia Estadística
Peso placentario (gramos)	376,7(±149,9)	500,2 (±115,4)	0,06
Placentas <p10- N°	8 (80%)	4 (44,4%)	0,17
Análisis Morfológico			
Alteraciones Vasculares Fetales	8 (80%)	7 (77.7%)	1
Alteraciones Vasculares Maternas	4 (40%)	5 (55.5%)	0,65
Alteraciones inflamatorias	0 (0%)	0	-
Índice Capilar- Vellositario			
Índice muestra central	3.40 (±0.54)	3.37(±0.39)	0,74
Índice muestra periférica	3.6 (±1)	3.00 (±0.35)	0,07
Índice promedio	3.50 (±0.60)	3.19 (±0.27)	0,12

*Tabla modificada a partir de Apoptosis placentaria en pacientes con preeclampsia tardía y Doppler de arterias uterinas alterado (1).

De las 43 placentas restantes con preeclampsia tardía (sin comorbilidad), se recolectaron de manera aleatoria 12 de éstas, siendo excluida 1 placenta por pérdida de datos clínicos (ficha extraviada). De estas últimas, que corresponden a las placentas que se estudiaron, 6 casos tenían DAU alterado y 4 DAU normal, de las cuales se basó principalmente nuestro estudio. Además de las placentas de pacientes con preeclampsia tardía, se analizó 1 placenta sana, que corresponde a una gestación fisiológica sin comorbilidad materna.

Presencia de STAT3 y SOCS 3 en Placentas.

En todas las placas de las placentas que se estudiaron con corte periférico y central, se logró determinar la intensidad de las proteínas que participan en la vía JAK/STAT (STAT3 y SOCS3) en presencia de preeclampsia tardía. De esta forma, se permitió comparar las intensidades de cada proteína según el Doppler de las arterias uterinas. De acuerdo a esto, se obtuvo que el promedio de la intensidad de STAT3 es mayor cuando el Doppler resulta normal (22719.47) v/s el Doppler alterado, donde el promedio de la intensidad de STAT3 es menor (18728.35). La misma situación se presenta con la proteína SOCS3, donde el promedio de la intensidad de marcaje es mayor cuando el Doppler está normal (4599.034286), frente al Doppler alterado (2832.4225). Por lo tanto, a partir de esta información se puede inferir que cuando hay un Doppler alterado en una condición de preeclampsia tardía, existe una alteración en la presencia de las proteínas que actúan en la vía JAK/STAT, produciéndose la disminución de éstas, en comparación con aquellas placentas de madres con preeclampsia tardía que tuvieron el Doppler de arterias uterinas normal (Gráfico N°1 y 2)

Gráfico N°1: Promedio de STAT3 con Doppler de Arterias Uterinas Normal v/s Doppler de Arterias Uterinas Alterado.

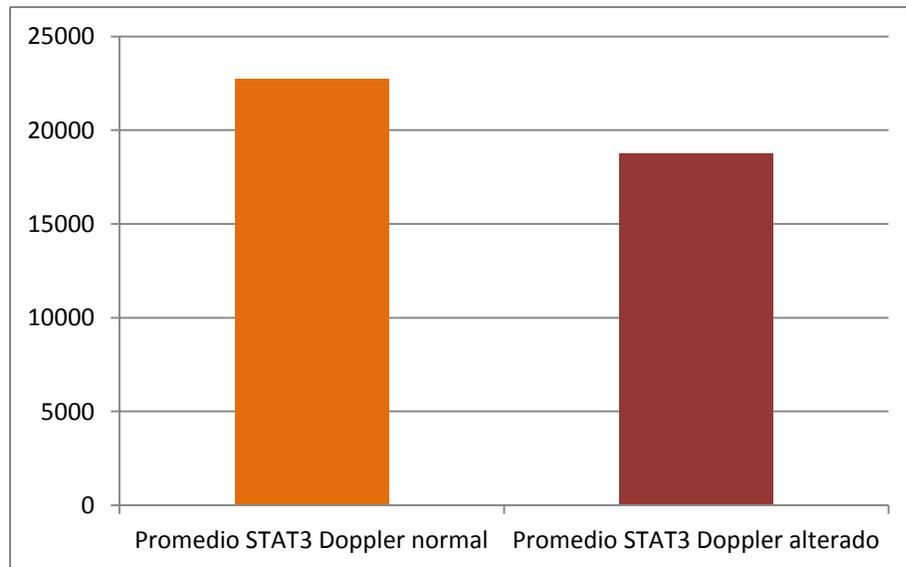
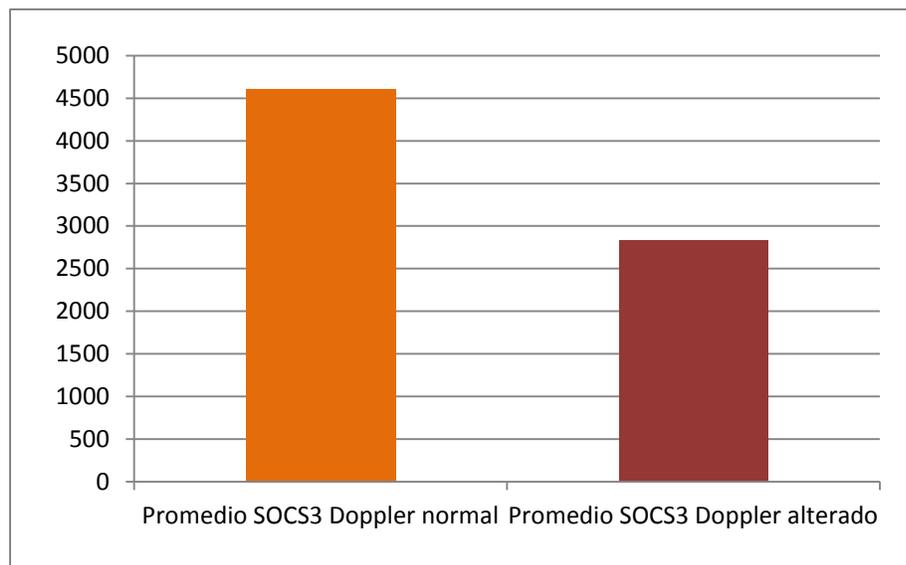


Gráfico N°2: Promedio de SOCS3 con Doppler de Arterias Uterinas Normal v/s Doppler de Arterias Uterinas Alterado.



IV. DISCUSIÓN.

Como se ha dicho a lo largo de la investigación, la preeclampsia es una condición materna originada por una anomalía en la invasión trofoblástica en el endometrio y miometrio, generando una inadecuada remodelación de las arterias espiraladas, provocando una hipoperfusión del flujo sanguíneo de la madre hacia la placenta y, por ende, hacia el feto, generando un cambio en las condiciones morfológicas y moleculares a nivel de la placenta.

Cuando no existen condiciones ideales para desarrollar una gestación adecuada, existe un mayor riesgo de desarrollar esta enfermedad. Es por ello que en este estudio se identificó y se estudió el perfil clínico de las madres con preeclampsia tardía. Se sabe que al cursar una gestación en grupos etarios extremos, existe una mayor predisposición para el desarrollo de esta enfermedad debido a alteraciones de la microvasculatura uterina, ya sea por escaso desarrollo vascular en la adolescente (<16 años) o por compromiso vascular en la embarazada tardía, hipertensa y diabética (>40 años) (2). En este estudio, se ha determinado que el promedio de la edad materna de mujeres con preeclampsia tardía fue de 27,7 años, donde aquellas que presentaron el Doppler de las arterias uterinas alterado, tenían un promedio de edad de 25,4 años (DS \pm 7.2); mientras que las que tuvieron un Doppler de arterias uterinas normal, tenían un promedio de 29 años (DS \pm 6.9).

En relación a la nuliparidad, no existe una diferencia significativa entre las nulíparas que presentaron Doppler alterado y normal, por lo que este factor no es determinante en la alteración del Doppler de las arterias uterinas.

Por otra parte, el índice de masa corporal (IMC) de mujeres con preeclampsia tardía fue de un 33,7 (DS \pm 5,1), que corresponde a mujeres en el estado nutricional de obesidad. El promedio de IMC de mujeres con Doppler alterado se vio aumentado sutilmente (34,7 \pm 4,9) frente a aquellas mujeres que tenían

Doppler normal ($32,7 \pm 5,1$). Se sabe que este factor influye en la incidencia de esta patología, lo que no se logró evidenciar en esta investigación, debido al escaso número de muestra.

La hipertensión arterial crónica y la diabetes mellitus, provoca una mayor incidencia en el desarrollo de la preeclampsia (2), así como un agravamiento en el cuadro clínico de ésta en algunos casos, sin embargo, en nuestro estudio se ha encontrado que el Doppler de las arterias uterinas en mujeres con preeclampsia y con comorbilidad se encuentra normal en la mayoría de los casos (32,2%).

La edad gestacional que presentó la madre al momento del diagnóstico de preeclampsia tardía a través del Doppler de arterias uterinas, fue de 36,5 semanas. Como se indica en la revisión bibliográfica, lo ideal es realizar ultrasonido con Doppler de arterias uterinas en el II trimestre de gestación, es decir, entre las 22 y 24 semanas, ya que a esta edad gestacional, el examen es más sensible para predecir alguna alteración en la velocidad del flujo de las arterias uterinas hacia la placenta. Si existe alteración a estas semanas de gestación, se puede predecir el posible desarrollo de la preeclampsia y, por ende, se pueden aplicar medidas preventivas para disminuir el riesgo de ésta. Sin embargo en nuestro estudio, el diagnóstico se produjo en el III trimestre, por lo que no se permite generar medidas preventivas en torno a la enfermedad, ya que ésta probablemente ya está instalada y avanzada, generando una mayor complicación de la patología.

Según datos bibliográficos, el peso promedio de la placenta es de 470 gramos (libres de membranas y cordón umbilical). Éste se obtiene a partir de la correlación con la edad gestacional y corresponde a $1/5$ a $1/8$ del peso fetal (3). El promedio del peso de la placenta de las mujeres con preeclampsia tardía fue de 477,1 gramos ($DS \pm 324,9 - 629,3$), encontrándose dentro de los rangos normales. Sin embargo, cuando existe un Doppler de arterias uterinas alterado, además de la condición preecláptica materna, el promedio del peso placentario es 376,7

gramos (DS \pm 226,8 - 526; p 0,06), en donde 8 placentas se encuentran bajo el percentil 10. Por otra parte, cuando el Doppler de arterias uterinas se encuentra normal, el peso promedio de la placenta corresponde a 500,2 gramos (DS \pm 384,8 - 615,6). De esto se puede desprender que al existir la condición de preeclampsia tardía en la madre con Doppler normal, el peso placentario no disminuye considerablemente, aunque sí existen placentas bajo el percentil 10 (4 placentas); sin embargo, éstas no afectan en el promedio. Pero cuando hay un Doppler alterado, además de la condición patológica de la madre, el peso placentario disminuye, lo que indica una hipotrofia placentaria, debido a una disminución en el flujo sanguíneo.

En lo que respecta al análisis morfológico de la placenta, es posible observar alteraciones vasculares tanto maternas como fetales al presentarse preeclampsia tardía; sin embargo, no se asocian estos defectos con los niveles de Doppler de arterias uterinas. Por otra parte, no se visualizaron alteraciones inflamatorias.

En relación a la proporción de capilares por vellosidad evaluada a través del Índice Capilar/Vellosidad, no hubo diferencias entre las placentas con y sin preeclampsia tardía. No obstante, es importante destacar que, al existir la patología preecláptica, el índice de la muestra central no varía significativamente entre un Doppler alterado y otro normal, ya que esta muestra al encontrarse cercana a la región umbilical, el flujo sanguíneo logra irrigar esa zona placentaria sin problemas; sin embargo, al tratarse del índice de la muestra periférica en placentas con preeclampsia, sí afecta (aunque no en gran medida) el Doppler de las arterias uterinas, esto porque es una zona más alejada del cordón umbilical y, por ende, el flujo disminuye, por lo que, al tratar de compensar esta carencia, se comienzan a formar más capilares, para que así el flujo sanguíneo llegue a esa región del tejido placentario.

Durante el transcurso de la gestación, ocurre un envejecimiento placentario fisiológico, el cual está guiado por un sinnúmero de vías de señalización, activándose así procesos apoptóticos en el tejido. Cuando se presentan condiciones anormales, como lo es la preeclampsia, donde el flujo placentario se ve disminuido por la vasoconstricción de los vasos sanguíneos, producto de una inadecuada placentación, estos mecanismos apoptóticos se ven mayormente alterados y juegan un rol importante en el crecimiento y desarrollo de la placenta. Estos mecanismos de apoptosis se activan cuando en condiciones de hipoxia, comienzan a generarse respuestas inflamatorias en el tejido que llevan a la apoptosis de las células trofoblásticas. Una de las vías de señalización que se ven involucradas en este proceso es la vía JAK/STAT, por lo que al haber menor flujo sanguíneo y, por ende, una mayor apoptosis del tejido, debería visualizarse un aumento de las proteínas involucradas en esta vía (STAT3 y SOCS3). Lo coherente sería que, al existir la patología preecláptica con Doppler alterado, estas proteínas deberían estar en mayor presencia, dado que hay una mayor condición de hipoxia, lo que llevaría a una mayor apoptosis; sin embargo, al analizar los resultados, nos encontramos con que al comparar las placentas de madres con diagnóstico de preeclampsia tardía con Doppler normal y alterado, observamos que existe una disminución tanto de STAT3 como de SOCS3 cuando el Doppler de las arterias uterinas se encuentra alterado.

A lo anterior, una posible explicación sería que, producto de una anomalía en la placentación, se genera una hipoperfusión (evidenciado en la alteración del Doppler de arterias uterinas) y, en consecuencia, una hipotrofia placentaria. Debido a esto, es que se produce una disminución en la vía de señalización JAK/STAT, y por ende, de proteínas importantes para el desarrollo de éste órgano como son STAT3 y SOCS3.

Finalmente, consideramos que es necesario continuar futuros estudios que permitan, a través de un mayor tamaño muestral, realizar comparaciones y relaciones que pudieran determinar diferencias estadísticamente significativas

entre el Doppler, la morfología placentaria y la expresión de las proteínas estudiadas. De cierta forma, esto no se logró debido al poco tiempo que se tuvo para realizar las técnicas inmunohistoquímicas de las muestras, dado que algunos insumos y anticuerpos debían solicitarse al extranjero y tardaban alrededor de un mes en llegar al país. Una vez que los anticuerpos llegaban al laboratorio, éstos debían estandarizarse, lo cual el proceso podía involucrar semanas. Son por estas razones, principalmente, por lo que se optó trabajar con esta cantidad de muestras para el estudio.

No se pudo indagar con mayor profundidad la diferencia entre el resultado de la investigación y la hipótesis, ya que aún no existen estudios que analicen ni comparen la relación de estas proteínas y el Doppler de Arterias Uterinas.

V. AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a las siguientes personas por orientarnos, apoyarnos y por participar activamente y de manera desinteresada en el estudio, además de su colaboración y excelente disposición para el desarrollo de esta investigación:

- Dr. Sebastián San Martín Henríquez, Departamento de Ciencias Biomédicas, Centro de investigación en biología de la reproducción, Universidad de Valparaíso.
- Juan Varas Muñoz, Laboratorio de Ciencias Morfológicas, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.
- René González Vargas, Laboratorio de Ciencias Morfológicas, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.
- Natalia Pérez Barraza, Tesista Tecnología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Pérez CC. Apoptosis placentaria en pacientes con preclampsia tardía y Doppler de arterias uterinas alterado. Valparaíso: Universidad de Valparaíso; 2013.
2. Valdés G, Oyarzún E, Corthorn J. Capítulo 41: Síndromes Hipertensivos y Embarazo. In: Sánchez AP, Siña ED, editors. Obstetricia. 4a ed. Santiago de Chile.: Mediterráneo; 2011. p. 836 - 67.
3. Sobrevia L, Casanello P. Capítulo 7. Placenta. In: Sánchez AP, Siña ED, editors. Obstetricia. 4a ed. Santiago de Chile.: Mediterráneo; 2011. p. 136 - 76.
4. Rojas M, Rodríguez A, Montenegro MA. Capítulo 6. Desarrollo Embrionario y Elementos de Fetación. In: Sánchez AP, Siña ED, editors. Obstetricia. 4a ed. Santiago de Chile.: Mediterráneo; 2011. p. 108 - 35.
5. Croxatto HB, Ortiz ME, Morales P. Capítulo 5. Transporte ovular, migración espermática, fecundación, desarrollo preimplantacional y nidación. In: Sánchez AP, Siña ED, editors. Obstetricia. 4a ed. Santiago de Chile: Mediterráneo; 2011. p. 89 - 107.
6. Capítulo 2. Primera semana de Desarrollo: de la ovulación a la implantación. In: Sadler TW, Ph.D., editors. Langman Embiología Médica. 9a ed. Montevideo, Uruguay.: Médica Panamericana; 2004. p. 33 - 54.
7. Gejman R, Duarte I. Capítulo 2. Anatomía microscópica del aparato genital femenino y mama. In: Sánchez AP, Siña ED, editors. Obstetricia. 4a ed. Santiago de Chile.: Mediterráneo; 2011. p. 28-45.

8. Capítulo 3. Segmentación del Cigoto e Implantación del Embrión. In: Carlson BM, MD, PhD, editors. Embriología Humana y Biología del Desarrollo. 4a ed. Barcelona, España: Elsevier; 2009. p. 43-64.
9. Capítulo 3. Segunda Semana de Desarrollo: Disco Bilaminar. In: Sadler TW, Ph.D., editors. Langman Embiología Médica. 9a ed. Montevideo, Uruguay: Médica Panamericana; 2004. p. 55-68.
10. Capítulo 4. Tercera semana de desarrollo: disco germinativo trilaminar. In: Sadler TW, Ph.D., editors. Langman Embiología Médica. 9a ed. Montevideo, Uruguay: Médica Panamericana; 2004. p. 69-90.
11. Capítulo 6. Tercer mes al nacimiento: el feto y la placenta. In: Sadler TW, Ph.D., editors. Langman Embiología Médica. 9a ed. Montevideo, Uruguay: Médica Panamericana; 2004. p. 123-56.
12. Vázquez Vigoa A, Reina Gómez G, Román Rubio P, Guzmán Parrado R, Méndez Rosabal A. Trastornos hipertensivos del embarazo. Revista Cubana de Medicina. 2005;44:0-.
13. Valdés G, Oyarzún E, Corthorn J. Capítulo 41. Síndromes Hipertensivos y Embarazo. In: Sánchez AP, Siña ED, editors. Obstetricia. 4a ed. Santiago de Chile.: Mediterráneo; 2011. p. 836 - 75.
14. Marco ID, Basualdo MN, Pietrantonio ED, Paladino S, Ingilde M, Domergue G, et al. Guía de Práctica Clínica: Estados hipertensivos del embarazo. Revista del Hospital Materno Infantil Ramón Sardá. 2011;30(2):70-93.
15. Rodríguez AN, Guzmán Parrado R, Díaz Garrido D. Valor del índice de pulsatilidad promedio de las arterias uterinas en gestantes hipertensas crónicas. Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología. 2012;38:499-509.

16. Yepes HC. Doppler de Arterias Uterinas en el primer trimestre del embarazo para la detección de los trastornos hipertensivos asociados con el embarazo. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*. 2009;60:328-33.
17. Contreras F, Martínez J, Fouilloux C, Betancourt M, Colmenares Y, Guevarra E, et al. Endotelio y Trastornos Hipertensivos en el Embarazo. *Revista de la Facultad de Medicina*. 2002;25:121-9.
18. Bahado O, Akolekar R, Mandal R, Dong E, Xia J, Kruger M, et al. First trimester metabolomic detection of late-onset preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2013;208(1):58 e1-7. Epub 2012/11/20.
19. Murray PJ. The JAK-STAT Signaling Pathway: Input and Output Integration. *The Journal of Immunology*. 2007;178(5):2623-9.
20. Sandoval C, Umana A, Guerra B, Hernandez O, Garcia JM, Fernandez L, et al. Simvastatin impairs growth hormone-activated signal transducer and activator of transcription (STAT) signaling pathway in UMR-106 osteosarcoma cells. *PloS one*. 2014;9(1):e87769. Epub 2014/02/04.
21. Heinrich PC, Behrmann I, Muller-Newen G, Schaper F, Graeve L. Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/Jak/STAT pathway. *The Biochemical journal*. 1998;334 (Pt 2):297-314. Epub 1998/08/26.
22. Hilton DJ. Negative regulators of cytokine signal transduction. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 1999;55(12):1568-77. Epub 1999/10/20.
23. Kamura T, Sato S, Haque D, Liu L, Kaelin G, Conaway C, et al. The Elongin BC complex interacts with the conserved SOCS-box motif present in

members of the SOCS, ras, WD-40 repeat, and ankyrin repeat families. *Genes & development*. 1998;12(24):3872-81. Epub 1998/12/31.

24. Zammarchi F, de Stanchina E, Bournazou E, Supakorndej T, Martires K, Riedel E, et al. Antitumorigenic potential of STAT3 alternative splicing modulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(43):17779-84. Epub 2011/10/19.
25. Schaefer TS, Sanders LK, Park OK, Nathans D. Functional differences between Stat3alpha and Stat3beta. *Molecular and cellular biology*. 1997;17(9):5307-16. Epub 1997/09/01.
26. Qi Q-R, Yang Z-M. Regulation and function of signal transducer and activator of transcription 3. *World journal of biological chemistry*. 2014;5(2):231-9. Epub 2014/06/13.
27. Lu Y, Fukuyama S, Yoshida R, Kobayashi T, Saeki K, Shiraishi H, et al. Loss of SOCS3 gene expression converts STAT3 function from anti-apoptotic to pro-apoptotic. *The Journal of biological chemistry*. 2006;281(48):36683-90. Epub 2006/10/10.
28. Liang Y, Xu WD, Peng H, Pan HF, Ye DQ. SOCS signaling in autoimmune diseases: molecular mechanisms and therapeutic implications. *European journal of immunology*. 2014;44(5):1265-75. Epub 2014/03/07.
29. Tamiya T, Kashiwagi I, Takahashi R, Yasukawa H, Yoshimura A. Suppressors of cytokine signaling (SOCS) proteins and JAK/STAT pathways: regulation of T-cell inflammation by SOCS1 and SOCS3. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2011;31(5):980-5. Epub 2011/04/22.

30. Isobe A, Takeda T, Sakata M, Yamamoto T, Minekawa R, Hayashi M, et al. STAT3-mediated constitutive expression of SOCS3 in an undifferentiated rat trophoblast-like cell line. *Placenta*. 2006;27(8):912-8. Epub 2005/11/23.
31. Takahashi Y, Dominici M, Swift J, Nagy C, Ihle JN. Trophoblast stem cells rescue placental defect in SOCS3-deficient mice. *The Journal of biological chemistry*. 2006;281(17):11444-5. Epub 2006/03/07.
32. Fitzgerald JS, Poehlmann TG, Schleussner E, Markert UR. Trophoblast invasion: the role of intracellular cytokine signalling via signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3). *Human reproduction update*. 2008;14(4):335-44. Epub 2008/04/22.
33. Sharkey AM, King A, Clark DE, Burrows TD, Jokhi PP, Charnock-Jones DS, et al. Localization of leukemia inhibitory factor and its receptor in human placenta throughout pregnancy. *Biology of reproduction*. 1999;60(2):355-64. Epub 1999/01/23.
34. San Martin S, Fitzgerald JS, Weber M, Parraga M, Saez T, Zorn TM, et al. Stat3 and Socs3 expression patterns during murine placenta development. *European journal of histochemistry : EJH*. 2013;57(2):e19. Epub 2013/06/29.
35. Suman P, Malhotra SS, Gupta SK. LIF-STAT signaling and trophoblast biology. *Jak-Stat*. 2013;2(4):e25155. Epub 2014/01/15.
36. Zhao S, Gu Y, Dong Q, Fan R, Wang Y. Altered interleukin-6 receptor, IL-6R and gp130, production and expression and decreased SOCS-3 expression in placentas from women with pre-eclampsia. *Placenta*. 2008;29(12):1024-8. Epub 2008/11/07.

37. Guibourdenche J, Leguy MC, Tsatsaris V. Biology and markers of preeclampsia. *Annales de biologie clinique*. 2013;71:79-87. Epub 2014/01/01. Biologie des marqueurs de la pre-eclampsie.
38. Dong Q, Fan R, Zhao S, Wang Y. Over-expression of SOCS-3 gene promotes IL-10 production by JEG-3 trophoblast cells. *Placenta*. 2009;30(1):11-4. Epub 2008/11/28.
39. Wang X, Athayde N, Trudinger B. A proinflammatory cytokine response is present in the fetal placental vasculature in placental insufficiency. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2003;189(5):1445-51.

VII. DATOS SUPLEMENTARIOS.

1. **Glosario de términos, Siglas y Abreviaciones.**

- **Período Embrionario:** Se inicia con la fecundación y termina 8 semanas después (10ma semana de amenorrea) (4).
- **Fecundación:** La fecundación normal comprende la unión de un gameto femenino con uno masculino, la formación de un complemento cromosómico diploide, la activación de la división y el retorno de la unidad biológica a edad cero (5).
- **Segmentación:** Consiste en una serie de divisiones celulares muy rápidas que experimenta el huevo fecundado. (4)
- **Implantación:** La implantación es el proceso por el cual el blastocisto toma contacto con el endometrio y se une a él. (4)
- **Mucosa o endometrio:** Reviste la pared interna del útero. Proporciona el sitio de implantación y nutrición al huevo fecundado. Consta de epitelio superficial, glándulas y una lámina propia o estroma endometrial. (6, 7)
- **Arterias Espirales Maternas:** Encargadas de la vascularización del endometrio junto a las arterias basales. Penetran hacia la superficie de la mucosa y manifiestan notorios cambios por la influencia hormonal. Durante la fase proliferativa, son menos numerosas, moderadamente tortuosas y se localizan en la base de la zona funcional. La acción de la progesterona hace más marcada su longitud y tortuosidad que son máximas en el período premenstrual, alcanzando la porción superficial de la zona funcional. Al final del ciclo presentan hialinización y degeneración de las fibras elásticas. Las arterias espiraladas se diferencian de las miometriales por la ausencia de capa elástica subendotelial. (7)
- **EVT:** Trofoblasto extravellositario.

2. Marco teórico.

Capítulo I: Placentación.

Luego de producirse la fecundación, el embrión permanece en la parte ampular de la trompa de Falopio unos 3 días. Después atraviesa su porción ístmica en tan solo 8 horas, permitiendo su entrada a la cavidad uterina. Dos días más tarde (6-8 días después de la fecundación), el embrión se implanta en la porción media de la pared posterior del útero (8).

Al principio del estadio de ocho células, los embriones de los mamíferos placentarios entran en una fase llamada compactación, en cuyo desarrollo las blastómeras más externas se adhieren íntimamente entre sí mediante uniones nexa y uniones estrechas, perdiendo su identidad individual cuando se las observa desde la superficie. Cuatro días post fecundación, ocurre el fenómeno de cavitación, donde Na^+ y H_2O atraviesan las blastómeras externas que constituyen una especie de epitelio y se acumulan en los espacios que dejan las blastómeras internas. Este espacio lleno de líquido recibe el nombre de blastocele y, el embrión en conjunto se denomina blastocisto (8).

En este período, el embrión, que aún está rodeado de su membrana pelúcida, consta de dos tipos de células: una capa epitelial externa (el trofoblasto), que rodea a un pequeño grupo interno llamado masa celular interna que corresponde al polo embrionario y el extremo opuesto al polo abembrionario. Las células de la masa celular interna darán origen al cuerpo mismo del embrión y a varias estructuras extraembrionarias, mientras que las células del trofoblasto sólo formarán estructuras extraembrionarias, incluidas las capas de la placenta (8).

Una vez que el blastocisto alcanza la cavidad uterina, se desprende de la zona pelúcida para preparar la implantación (8). De esta forma el embrión adquiere la competencia para implantarse en estado de blastocisto expandido sin zona pelúcida y la receptividad del endometrio al embrión está cronológicamente limitado a un corto período llamado “ventana de implantación” (5).

La primera etapa de implantación se denomina aposición, que en el embarazo humano ocurre alrededor del día 6 a 7 post fecundación. El lugar más común de implantación es la parte alta de la cara posterior de la pared uterina. Esta ocurre por la adhesión de la membrana apical del trofoblasto a la membrana apical del epitelio uterino. La propiedad de adhesividad apical de estos epitelios, del trofoblasto y del endometrio, se adquiere en la ventana de implantación, que es crucial para la implantación del blastocisto (3).

Placentación

Antes de la implantación, las células trofoblásticas del blastocisto expresan moléculas de adhesión en sus superficies, así mismo, las superficies apicales de las células epiteliales del endometrio también expresan moléculas de adhesión que permiten el proceso de implantación (8).

Luego de que ambos tejidos se acoplen, se da comienzo a la primera etapa de la placentación: etapa prelacunar. En este período, las células trofoblásticas del polo embrionario presentan una alta tasa de proliferación, que dan como resultado una diferenciación del trofoblasto en una doble capa de células, formando una zona externa multinucleada sin límites celulares netos en contacto directo con el tejido materno, llamada sincitiotrofoblasto. El resto de las células mononucleadas que no han tenido contacto con las células maternas que permanecen sin fusionarse, se denominan citotrofoblasto (3, 9).

En los días siguientes ocurre una invasión progresiva hacia el endometrio materno, que consiste en un mayor contacto de la superficie del blastocisto con estos tejidos y, junto a ello, se observa una mayor proliferación del trofoblasto, con la consiguiente fusión celular. La masa del sincitiotrofoblasto aumenta alcanzando un grosor considerable en el polo de implantación, formando extensiones y digitaciones que invaden las capas más profundas del endometrio (3).

Luego de esta fase inicial, continua la etapa lacunar, la cual comienza el día 8 post fecundación, donde aparecen pequeñas vacuolas intrasincitiales en la creciente masa de sincitiotrofoblasto presente en el polo de implantación. Las vacuolas

crecen rápidamente llegando a confluir, lo que constituye un sistema de lagunas. Las láminas y pilares del sincitiotrofoblasto se denominan trabéculas. Las lagunas que se forman en el sincitiotrofoblasto, tienen lugar en el polo de implantación, marcando el inicio de la etapa lacunar, la cual se extiende hasta el día 13 post fecundación(3).

A medida que la implantación va avanzando, la masa de sincitiotrofoblasto se expande sobre la superficie del blastocisto y se va formando un intrincado sistema lacunar. En esta etapa se observa un blastocisto tan profundamente implantado, que el epitelio uterino se cierra por encima del sitio de implantación. Además, el sincitiotrofoblasto cubre toda la superficie del blastocisto, siendo el extremo del polo de implantación el que va a formar la placenta, considerablemente más grueso que el del polo opuesto a la implantación (3).

La formación de las lagunas divide la capa del trofoblasto en tres capas: La placa coriónica primaria, que mira hacia la cavidad del blastocisto; el sistema lacunar separado por trabéculas; y la capa trofoblástica externa, que mira hacia el endometrio (3).

Aproximadamente, en el día 13 post fecundación, las prolongaciones del sincitiotrofoblasto invasivo cubren tramos de los vasos sanguíneos endometriales maternos, erosionan las paredes vasculares y la sangre de la madre comienza a rellenar las lagunas aisladas que se han ido formando en el trofoblasto (8). En esta etapa, además de la invasión trofoblástica, también ocurre una adaptación de los vasos sanguíneos maternos al embarazo y al anclaje de la placenta en desarrollo (3).

El estroma endometrial se expone a cambios dramáticos inducidos por el trofoblasto invasivo, logrando una importante proliferación de las células del estroma, dando origen a las células de la decidua. La invasión del sincitiotrofoblasto basal a partir del día 13 post fecundación ocurre a causa de la disgregación de las paredes de los vasos endometriales maternos, logrando la perfusión con sangre materna de las lagunas formadas. Esta primera irrigación materna se desarrolla

por presión capilar, pero al generarse una implantación más profunda del endometrio, se comprometen también las arterias espirales, lo que aumenta la presión intralacunar, generándose así la verdadera circulación materna de la placenta (3).

Posteriormente ocurre el periodo vellositario, donde aumenta notablemente la proliferación del citotrofoblasto y se introduce en el sincitiotrofoblasto, donde se forman columnas celulares rodeadas de sincitio que crecen longitudinalmente. Estas columnas con revestimiento sincitial reciben el nombre de vellosidades primarias (3).

Con la proliferación del citotrofoblasto y la ramificación de las vellosidades, se generan los troncos vellositarios, los cuales derivan de las trabéculas primitivas. Una vez que el trofoblasto proliferante alcanza la envoltura citotrofoblástica externa, se denominan vellosidades de anclaje y, con ello, el sistema lacunar pasa a denominarse espacio intervelloso (3).

Luego de dos días, las células mesenquimáticas derivadas de la capa del mesoderma extraembrionario de la placa coriónica primaria, penetran en el centro de las vellosidades primarias y crecen en dirección de la decidua, formándose así las vellosidades secundarias (3).

Cerca del día 18 a 20 post fecundación, las células mesodérmicas de la parte central de la vellosidad, comienzan a diferenciarse en células troncales hematopoyéticas y en vasos sanguíneos de pequeño calibre, que forman el sistema capilar vellositario, dando origen a la vellosidad terciaria o vellosidad placentaria definitiva (3).

Una vez que se ha establecido la circulación intervelloso, la sangre materna y fetal llegan a estar muy cerca; sin embargo, ambas circulaciones están separadas por la denominada barrera placentaria (3).

Mientras esto ocurre, las células citotrofoblásticas de las vellosidades se introducen progresivamente en el sincitio suprayacente hasta llegar al endometrio.

Aquí se ponen en contacto con prolongaciones similares a los troncos vellositarios adyacentes y forman una delgada envoltura citotrofoblástica externa, la que rodea en forma gradual al trofoblasto por completo y une firmemente el saco coriónico al tejido endometrial materno. Las vellosidades que van desde la placa coriónica a la decidua basal, se denominan vellosidades troncales o de anclaje (10).

La cavidad coriónica se torna mucho más grande y el embrión queda únicamente unido a su envoltura trofoblástica por el pedículo de fijación (futuro cordón umbilical), quien pone en contacto el sistema capilar que se desarrolla en el centro de los troncos de las vellosidades con los capilares de la lámina coriónica, lo cual da origen al sistema vascular extraembrionario (11).

Placenta

La placenta es un órgano de forma discoide, plana, redonda u ovalada. Su diámetro, grosor y peso promedio es de 22 cm, 2.5 cm y 470 gramos (al término), respectivamente. Su peso se correlaciona con la edad gestacional y corresponde a 1/5 a 1/8 del peso fetal (3).

La placenta posee membranas que corresponden a tres capas que se disponen desde afuera hacia dentro: la decidua vera, el corion, y el amnios(3).

Corion frondoso y decidua basal

A medida que el embarazo avanza, las vellosidades del polo embrionario siguen creciendo y expandiéndose, originando el corion frondoso; las del polo abembrionario degeneran y, hasta el tercer mes, esta porción del corion es lisa, denominándose corion leve o calvo. La diferencia entre el polo embrionario y abembrionario del corion se manifiesta en la estructura de la decidua. Esta, la cual cubre el corion frondoso, se denomina decidua basal. La lámina decidual, está íntimamente unida al corion. La capa de decidua sobre el polo abembrionario se denomina decidua capsular. Con el crecimiento de la vesícula coriónica, esta capa se expande y degenera. Luego, el corion leve, se pone en contacto con la pared uterina (decidua parietal) en el lado opuesto del útero y las dos capas se fusionan,

de modo que la cavidad uterina queda obliterada. En consecuencia, la única porción del corion que participa en los procesos de intercambios es el corion frondoso que, junto con la decidua basal, forma la placenta (11).

Estructura de la placenta

Hacia el comienzo del cuarto mes de gestación, la placenta posee dos componentes, una porción fetal, formada por el corion frondoso y una porción materna, constituida por la decidua basal. En el lado fetal, la placenta está rodeada por la lámina coriónica; en el lado materno, por la decidua basal, cuya lamina decidual es la porción más íntimamente incorporada a la placenta (11).

En este momento, la mayoría de las células citotrofoblásticas han degenerado. Entre las láminas coriónica y decidual se encuentran los espacios intervillosos, los cuales están ocupados por sangre materna (11).

La decidua formará varios tabiques deciduales que sobresalen en los espacios intervillosos, pero no llegan a la lámina coriónica. Éstos poseen un núcleo central de tejido materno, pero su superficie está cubierta por una capa de células sincitiales, que separan la sangre materna que se encuentra en los lagos intervillosos del tejido fetal de las vellosidades. La formación de estos tabiques divide la placenta en compartimientos llamados cotiledones. (11)

Circulación Placentaria Materna.

Durante las primeras semanas del embarazo, el trofoblasto extraveloso invade las paredes vasculares reemplazando la capa íntima, muscular y elástica por material de tipo fibrinoide en las arteriolas deciduales, controlando así el flujo sanguíneo sobre el saco ovular y protegiéndolo de ser desprendido por turbulencias del flujo sanguíneo. Este proceso aumenta entre las semanas 9 y 14, período en el cual avanza la degeneración fibrinoide hasta las arterias espirales del miometrio, transformándolas en vasos de alto flujo y baja resistencia, carentes de elementos contráctiles. De esta forma, se produce un gradiente de presión suficiente para aumentar el flujo sanguíneo en el espacio intervilloso a medida

que el feto va creciendo. Esta invasión del trofoblasto al lecho vascular materno permite mantener el flujo sanguíneo y la capacidad nutricional adecuados en la placenta (3).

Los cotiledones reciben sangre a través de las arterias espiraladas, que atraviesan la lámina decidual y entran en los espacios intervillosos. La luz de la arteria espiral es reducida, produciendo un aumento de la presión de la sangre en el espacio intervilloso. Esta presión impulsa la sangre hacia la profundidad de los espacios intervillosos y baña las abundantes vellosidades con sangre rica en oxígeno (11).

Es importante aclarar que la circulación fetal es cerrada y se realiza en el interior de los troncos y vellosidades coriales que confluyen en la vena umbilical, a diferencia de la circulación materna, que es abierta, es decir, las arteriolas espiraladas terminan abiertas hacia la decidua basal o en el interior de los tabiques intercotiledonarios, lo que permite que la sangre llegue hasta la vena subcorial del espacio intervilloso (3).

El intercambio placentario se produce a través de la barrera placentaria, que es una membrana que separa la sangre materna de la fetal, facultando el paso de muchas sustancias. Esta barrera, en un principio, está formada por cuatro capas: el revestimiento endotelial de los vasos fetales, el tejido conectivo del centro de las vellosidades, la capa citotrofoblastica y el sincitio. A partir del cuarto mes en adelante se va adelgazando, produciéndose el aumento del índice de intercambio, debido al íntimo contacto entre el endotelio con la membrana sincitial (11).

Una de las funciones primordiales, es la producción de hormonas como la progesterona y, hacia el final del cuarto mes, de estrógenos, gonadotropina coriónica humana y somatomatrofina. La placenta es de vital importancia, ya que logra efectuar funciones primordiales como el intercambio de gases, de nutrientes, electrolitos y la transmisión de anticuerpos maternos al feto (11).

Cuando ocurre una mala placentación, debido a una invasión vascular incompleta o ausente del trofoblasto hacia las arterias espirales, no se produce la eliminación

de la capa muscular de las arterias espirales, impidiendo una baja resistencia, baja presión y alto flujo. Si esto ocurre, se puede llegar a producir una de las principales patologías obstétricas: la preeclampsia materna (3).

Capítulo II: Síndromes Hipertensivos del Embarazo (SHE).

Los trastornos hipertensivos del embarazo son problemas médicos importantes que explican una proporción elevada de complicaciones maternas y fetales, constituyendo una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad materna, fetal y neonatal, tanto en países desarrollados como en los subdesarrollados. (12)

La definición de hipertensión arterial (HTA) en el embarazo no es uniforme, pero en la actualidad, se prefieren los valores absolutos de presión arterial sistólica (PAS) = 140 mmHg y de presión arterial diastólica (PAD) = 90 mmHg como criterios de HTA. Es necesario confirmar las cifras de presión arterial (PA) elevadas en más de 2 lecturas con diferencia de 4 horas, como mínimo, entre las mismas y tener en cuenta la fase V de los ruidos de Korotkoff. (12)

Epidemiología.

La prevalencia varía entre el 7 y 10% de la población gestante (13), de los cuales las formas severas, constituyen el 4.4% de todos los nacimientos. Se sabe que para algunos países en vías de desarrollo, puede alcanzar una incidencia cercana al 18%. (14)

Clasificación.

a. Hipertensión inducida por el embarazo (HIE)

- Preeclampsia (PE): Afecta principalmente a mujeres jóvenes (<25 años), aparece en la segunda mitad de la gestación y es reversible en el postparto. Su incidencia es variable (2-30%) y dependen de las características demográficas y socioculturales de la población evaluada, así como los criterios que sean utilizados para la evaluación de la patología: Hipertensión

con cifras de PA de 140/90 mm Hg observada en dos tomas diferentes con 6 horas de diferencia. Tipos: moderada y severa (Tabla N° 1) (13).

Tabla N°3: Características de la patología Preeclámptica según su clasificación.

	Moderada	Severa
PA sistólica (mmHg)	≤ 160	≥ 160
PA diastólica (mmHg)	< 110	≥ 160
Proteinuria (g/24 hrs.)	<5	≥ 5
Diuresis (ml/24 hrs.)	≥ 500	< 500
Edema	De moderado a generalizado.	Anasarca
Compromiso neurológico	Ausente	Irritabilidad SNC, cefalea, hiperreflexia, fotopsias y tinitus.
Compromiso coagulación	Ausente	Trombocitopenia y anemia hemolítica.
Compromiso hepático	Ausente	Elevación de enzimas.

*Modificado a partir de Capítulo 7. Obstetricia por Pérez Sánchez A, 2011.

- Eclampsia (E): Es la forma más severa de preeclampsia. Debido al aumento de la tensión y al daño endotelial, puede provocar una encefalopatía hipertensiva, siendo capaz de producir un cuadro convulsivo y/o coma en ausencia de patología neurológica previa. Se presenta en el 0.3% de los partos, donde se observa una disminución con el buen manejo de la PE. (13)
- b. Hipertensión crónica, latente o enfermedad vascular hipertensiva crónica (EVHC): Es la elevación tensional que se detecta previa al embarazo o antes de las 20 semanas de gestación y que persiste luego del parto. Su prevalencia aumenta en mujeres mayores de 30 años, multíparas y con antecedentes familiares de hipertensión. Se presenta con una elevación de la PA ≥ 140/90

mmHg, antes de la gestación o dentro de las primeras 20 semanas de embarazo. Este tipo de hipertensión se clasifica en: (13).

- Hipertensión esencial (sobre el 90% de los casos).
- Hipertensión secundaria o crónica de causa conocida.

c. EVHC con HIE sobre agregada: Corresponde a la presencia de preeclampsia o eclampsia en mujeres con hipertensión crónica. Se presenta en embarazos de más de 20 semanas de gestación y con proteinuria > 300 mg en 24 horas. Se clasifica en: (13)

- Hipertensión esencial + PE sobre agregada
- Hipertensión crónica de causa conocida + PE sobre agregada

d. Hipertensión Arterial transitoria o Preeclampsia tardía: Corresponde a una hipertensión latente provocada por alteraciones propias de la maternidad, en ausencia de proteinuria. Aparece a fines del embarazo e, incluso, en el puerperio inmediato y desaparece a los 10 días postparto. Diversos factores de riesgo pueden influir en sus causas, tanto por herencia, sexo, edad o raza, por ende, son poco modificables, a diferencia de otros que podrían variar como son los hábitos, el ambiente y costumbres de las gestantes. (13)

Tamizaje y predicción de Preeclampsia.

Con los avances de la ciencia y la medicina, durante los últimos años gran parte de la investigación en PE ha ido dirigida hacia la identificación precoz de grupos de riesgo de padecer la enfermedad con el fin de prevenir su aparición o bien, de identificarla precozmente mejorando sus resultados perinatales. Dentro de los predictores de PE, se han identificado factores de riesgo clínicos, marcadores bioquímicos en sangre materna y estudios de Doppler materno.

- Factores de riesgo.

Tabla N° 4: Factores de riesgo para el desarrollo de HTA inducida en el embarazo.

Factores de Riesgo	Criterios Diagnósticos
Herencia	<ul style="list-style-type: none"> • Condición primigesta o hija de madre pre-ecláptica • Modificaciones en la estructura de la Apolipo-Proteína "E" y el factor "V" de Leider. • Raza negra
Edad	<ul style="list-style-type: none"> • Menor de 25 años • Mayor de 35 años
Obesidad	IMC (kg/cm ²) <ul style="list-style-type: none"> • Normal < 25 • Obesidad > 27
Metabólicos.	<ul style="list-style-type: none"> • Alteraciones en la concentración de ácido úrico (hiperuricemia) • Alteraciones en la concentración de Homocisteína • Hiperlipidemias: <ul style="list-style-type: none"> • Colesterol > 200 mg/dl • Triglicéridos > 150 mg/dl
Presión Arterial.	<ul style="list-style-type: none"> • Normal: <130/85 mmHg • Normal Alta: 130-139/85-89 mmHg • HTA: >140/90 mmHg
Hábitos nocivos.	Uso y abuso de alcohol, tabaco y drogas durante el embarazo
Actividad Física.	<ul style="list-style-type: none"> • 0: Sedentario Absoluto • I: Activo pero sin actividad física regular • II: Actividad física leve • III: Actividad física moderada • IV: Actividad física intensa (deportistas)

Sensibilidad al sodio.	Cambios de la presión arterial media cuando se realizan cambios drásticos en el consumo de sodio: De Concentraciones altas (300 mEq/día) a concentraciones bajas en sodio (20-40 mEq/día). <ul style="list-style-type: none"> • Resistentes: < 3mmHg • Sensibles: > 10mmHg
Patología Obstétrica asociada.	<ul style="list-style-type: none"> - Mola Hidatiforme. - Embarazos múltiples.

**Modificado a partir de Endotelio y trastornos hipertensivos en el embarazo, por Contreras F, 2002.*

- Ultrasonido Doppler de Arterias Uterinas (DAU): El ultrasonido Doppler de Arterias Uterinas, es un método predictivo utilizado para la detección de trastornos hipertensivos del embarazo (SHE) principalmente la Preeclampsia, donde se evalúa la velocidad del flujo a través de un vaso sanguíneo, permitiendo valorar su resistencia al paso de la sangre. Para ello se recurre a la utilización de parámetros cuantitativos como el índice de pulsatilidad, puesto que es el que tiene mayor uso y aplicabilidad. El punto de corte para la normalidad es: índice de pulsatilidad (IP) < del percentil 95 (95p) para la edad gestacional en estudio. Esto se explica, dado que durante el embarazo, fisiológicamente existen modificaciones en las arterias espiraladas; desde vasos de pequeño diámetro y alta resistencia a vasos de gran diámetro y baja resistencia, donde se observa normalmente una disminución del IP a medida que la gestación progresa (1,15).

El tamizaje con Doppler de AUt puede realizarse entre las 11 – 14 semanas o a las 22 – 24 semanas de embarazo. En el primer trimestre, el examen tiene menor sensibilidad que el de segundo trimestre, pero con el potencial beneficio de poder implementar medidas preventivas en las pacientes de alto riesgo (1).

En los últimos años, se ha demostrado que un patrón anormal en el flujo de las arterias uterinas durante el primer y segundo trimestre del embarazo está relacionado con un mayor riesgo de desarrollar preeclampsia, mientras que en

las mujeres con estudios normales, la probabilidad de presentar esta complicación es muy baja (16).

La evaluación del Doppler de Arterias Uterinas, permite identificar aquellas pacientes con falla en la modificación de arterias espiraladas que persisten ejerciendo alta resistencia al flujo sanguíneo, mostrando IP elevados. Las mujeres que desarrollan PE tienen mayor IP promedio de ambas arterias uterinas que mujeres sin PE. El tamizaje con DAU logra realizarse en el 99% de los casos siendo muy bien tolerado en más del 90% de las pacientes. El DAU alterado definido como IP mayor al percentil 95 para una determinada edad gestacional se asocia a mayor riesgo de PE, RCF, DPPNI y mortalidad perinatal (1).

Etiopatogenia y Fisiopatología.

A pesar de múltiples estudios realizados, la causa precisa del origen de los trastornos hipertensivos del embarazo aún no está esclarecida. Sin embargo, existen una serie de hechos que se encuentran presentes en la enfermedad entre los que se destacan, como agentes patogénicos, una falla en la migración del trofoblasto y un defecto en la placentación, que origina diferentes alteraciones inmunogenéticas e isquemia útero-placentaria. Todo esto en el contexto de determinados factores genéticos, étnicos, nutricionales, sobrepeso, dislipidemia e incremento de la homocisteína, establece un cuadro de hipoperfusión placentaria con liberación de elementos tóxicos circulantes, aumento del estrés oxidativo y aparición de disfunción endotelial. (12)

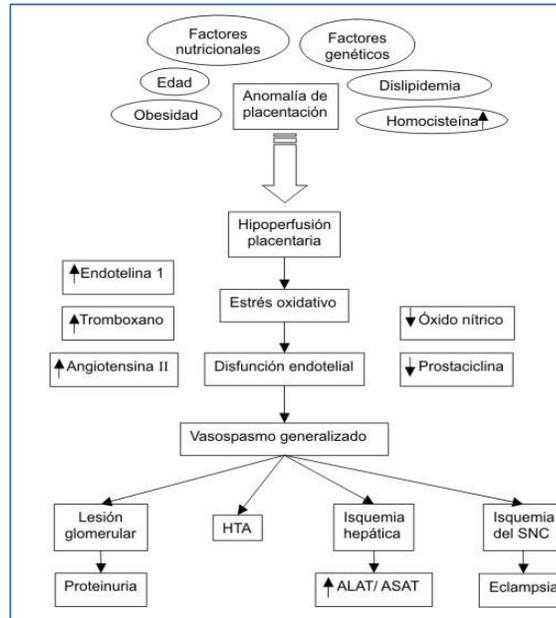
El endotelio es la estructura fundamental de la íntima y ejerce una función de control sobre la circulación mediante la producción de diversas sustancias vasoactivas; además, produce sustancias con actividad enzimática e inmunológica; ejerce la función de barrera permeable altamente selectiva y desempeña un papel determinante en el registro de cambios bioquímicos en la sangre y, de esa manera, mantiene la homeostasis cardiovascular. Se le han

atribuido funciones, tales como: modificación de la respuesta contráctil músculo liso vascular, hemostático y participación en la respuesta inflamatoria (17).

El endotelio juega un rol trascendental en el curso del embarazo normal, el cual se caracteriza por una profunda reducción de la reactividad vascular frente a la mayoría de los agentes vasoconstrictores, reducción de las resistencias vasculares periféricas y, en consecuencia, de la presión arterial; también aumenta la producción de óxido nítrico por el endotelio, mientras que, en los trastornos hipertensivos del embarazo, hay una respuesta exagerada a los agentes vasoconstrictores, especialmente a la angiotensina II, la cual, además, estimula la reabsorción tubular proximal de sodio, la liberación de aldosterona, la liberación de noradrenalina, la liberación de inhibidores del factor tisular activador del plasminógeno, la liberación de factores de crecimiento que actúan sobre las células musculares de los vasos sanguíneos y sobre la matriz extracelular, la liberación de endotelina que es un importante vasoconstrictor y que ha sido recientemente postulado como agente causal de la pre-eclampsia, y la formación de radicales libres que, a su vez, estimulan la degradación del óxido nítrico; también se observa un aumento en la expresión de moléculas de adhesión leucocitaria, eventos que condicionan un aumento de las resistencias vasculares periféricas. (17)

Fisiopatológicamente se piensa que la preeclampsia se produce por el fracaso en la invasión del trofoblasto en las arterias espiraladas maternas que resultan en el mantenimiento de la alta resistencia vascular materna, sin embargo, distintos estudios evidencian que en la preeclampsia, existiría una alteración en el proceso de diferenciación del trofoblasto vellositario, donde estímulos exógenos que crean estrés oxidativo y nitrativo, influyen en el desarrollo de la placenta y contribuyen a las lesiones de ésta asociados a la preeclampsia(18).

Figura Nº 2: Fisiopatología de la preeclampsia.



**Modificado a partir de: Trastornos hipertensivos del embarazo, Vázquez Vigoa A, 2005.*

Otros datos relacionados a la Preeclampsia.

Durante la gestación diversas estructuras bioquímicas son liberadas al torrente sanguíneo materno. Dentro de éstas estructuras, existe una liberación de proteínas claves para la fisiología placentaria provenientes de las células trofoblásticas de las vellosidades placentarias llamadas STAT3 y SOCS3, participantes de la vía Jak/Stat.(18).

Muchos procesos bioquímicos regulan la vía Jak/Stat, como son las proteínas SOCS que son inducidas por citoquinas y otros estímulos, cumpliendo la función como inhibidores de la retroalimentación negativa de la señalización del receptor de citoquinas (19).

La vía Jak-STAT juega un rol importante en la regulación de la proliferación celular, la diferenciación y la supervivencia. El desequilibrio de esta vía contribuye directamente en la oncogénesis y la transformación maligna de varios tipos de cáncer. Esta vía de señalización se activa mediante una variedad de hormonas,

citoquinas y factores de crecimiento e induce su propia inactivación, principalmente por supresores de la señalización de citoquinas (SOCs) familia de proteínas, que actúa en un bucle de retroalimentación negativa (20).

Capítulo III: Vía JAK/STAT

Según indican estudios recientes, existen diversos procesos fisiológicos y patológicos, tales como procesos inflamatorios, de respuesta inmunológica, el cáncer, entre otros, donde se ha visto involucrada la vía JAK/STAT, la cual es activada por una serie de citoquinas y factores de crecimiento.

Uno de los procesos en donde participa esta vía es el proceso de placentación. Para ello, es imprescindible comenzar a describir la función y actividad de la vía JAK/STAT, así como sus principales componentes.

Citoquinas: Características generales.

Las citoquinas juegan un rol importante en la comunicación entre las células de los organismos multicelulares. Como mediadores intercelulares actuando en concentraciones nanomolares a picomolares, regulan la supervivencia, crecimiento, diferenciación y funciones efectoras de las células. A diferencia de las hormonas, las citoquinas no están almacenadas en las glándulas como moléculas preformadas, sino que son rápidamente sintetizadas y secretadas por diferentes células principalmente después de la estimulación. Las citoquinas actúan sobre muchas células diana diferentes (pleiotropismo) y frecuentemente afectan la acción de otras citoquinas en una manera aditiva, sinérgica o antagonista. Ellas ejercen su acción, la cual puede ser auto-, para- o endo -crina, en los receptores específicos de la superficie celular de sus células diana(21).

Las citoquinas han sido clasificadas 1) en base a sus respuestas biológicas en citoquinas pro o anti inflamatorias 2) de acuerdo a los receptores que utilizan o 3) de acuerdo a sus estructuras tridimensionales(21).

A pesar de la falta de similitudes en las secuencias de aminoácidos, la primera propuesta de la familia de citoquinas está caracterizada por una estructura desordenada 4- α -hélice. Éstas fueron posteriormente subclasificadas en una cadena corta y una cadena α -hélice larga. La última subfamilia comprende la interleuquina (IL)-6, IL-11, factor inhibidor de leucemia (LIF), oncostatina M (OSM), factor neurotrófico ciliar (CNTF), cardiotropina (CT)-1, eritropoyetina (Epo), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), IL-12, hormona del crecimiento, prolactina, IL-10, interferón α/β (IFN), y leptina. Este grupo se conoce como las citoquinas del tipo IL-6 (21).

En este estudio, nos enfocaremos principalmente en la IL-6 y el factor inhibidor de leucemia (LIF), quienes han sido descritos en diversos estudios como actores principales durante el proceso de placentación.

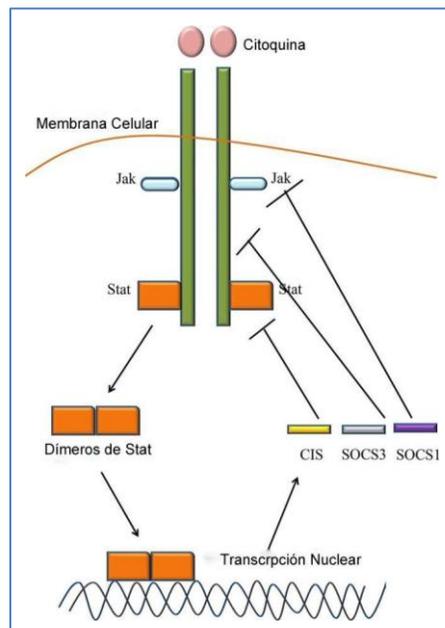
Tanto la IL-6 como LIF, utilizan un receptor común de la subunidad gp130 para la señal de transducción y como una consecuencia obtenida similar y la superposición en respuestas fisiológicas. Se ha encontrado que estas señales de citoquinas producen la activación de la Janus quinasa (JAKs) y los factores de transcripción de la familia STAT (21).

Vía JAK/STAT

Los receptores de las citoquinas se agregan a la unión, lo que conduce a la yuxtaposición de los receptores de tirosina quinasas asociadas, llamadas quinasas Janus o JAKs (llamado así por el dios mitológico romano de dos cabezas, Janus, debido a su "estructura de dos cabezas"). Estos JAKs ahora están habilitados para fosforilarse y activarse entre sí, así como dominios específicos en los dominios citoplasmáticos de su respectivo receptor de citoquina. Al hacerlo, las STATs intracelulares ahora son capaces de unirse a estos dominios de receptores, por lo que las STATs también pueden, a su vez, ser fosforilados y activados por las JAK. Tras la activación, las STATs se disocian del receptor y proceden a formar homo- y heterodímeros que se translocan en el núcleo de una célula. Aquí, las STATs

sobre-regulan o aceleran la transcripción de proteínas diana al unirse e influir en las regiones promotoras de estas proteínas. Una de las proteínas transcritas es la proteína SOCS, un regulador que es específico y no específico, capaz de modular negativamente la duración de la respuesta de señalización de citoquinas, mediante la unión a los residuos de fosfotirosina, como se ve por ejemplo en JAK (Fig. 3). (22, 23)

Figura N° 3: Vía de señalización JAK/STAT. Las citoquinas se unen a los receptores de membrana, activando las JAKs. Éstas se fosforilan y activan las proteínas STATs, las cuales se dimerizan e ingresan al núcleo para la transcripción, obteniéndose proteínas como CIS, SOCS1 y SOCS3



**Imagen modificada a partir de SOCS signaling in autoimmune diseases: Molecular mechanisms and therapeutic implications por Yan Liang et al, 2014.*

STAT3

El transductor de señal y activador de la transcripción 3 (STAT3) es un miembro de la familia STAT de factores de transcripción implicados en el factor de crecimiento y la señalización de citoquinas. Su activación es debido a la fosforilación transitoria de monómeros citoplásmicos que dimerizan, translocan al núcleo, y se unen a secuencias promotoras específicas, regulando de esta manera la expresión del gen. STAT3 está implicada en una amplia gama de procesos normales y patógenos incluyendo la proliferación celular, diferenciación, supervivencia, angiogénesis, metástasis, inflamación, y la respuesta inmune, y actúa como un oncogén para inducir la tumorigénesis al tiempo que contribuye a mecanismos de escape del tumor inmune(24).

Existen dos isoformas principales de STAT3: de longitud completa (STAT3 α) y truncada (STAT3 β). Stat3 β es una forma corta de STAT3 que difiere de la forma más larga (STAT3 α) por la sustitución de los residuos de 55 aminoácidos C-terminales de STAT3 α por 7 residuos específicos a STAT3 β . Esta última, puede ser fosforilada eficientemente en la tirosina clave 705 (Y705), pero carece de la serina 727 (S727), cuya fosforilación estimula la actividad transcripcional, demostrando que STAT3 α presenta una mayor actividad transcripcional que STAT3 β . STAT3 α y STAT3 β tienen propiedades significativamente diferentes debido a la presencia o ausencia de la cola C-terminal ácida de STAT3 α en lugar de la secuencia C-terminal peculiar de STAT3 β . En adición a estos efectos sobre la transcripción, se especula que la cola ácida puede desestabilizar la forma dimérica activa de STAT3 α , lo que resulta en la actividad de unión al ADN inferior de la forma-Y705 fosforilado en comparación con STAT3 β y en una desfosforilación más rápida(25, 26).

STAT3 β puede unirse al ADN como un homo-o heterodímero (con STAT3 α u otros factores de transcripción). Inicialmente, esta isoforma fue descrita como un factor dominante negativo y se muestra para inhibir la transactivación de genes, presumiblemente por promotor de ocupación competitiva. De hecho, la

sobreexpresión de STAT3 β puede inducir la apoptosis e inhibir el crecimiento del tumor(25, 26).

En circunstancias normales, STAT3 α es la principal isoforma expresada en las células. STAT3 β puede unirse competitivamente al promotor de los genes diana e inhibir la función de transactivación de STAT3 α (25, 26).

Figura N° 4: Dominio de la estructura de la señal de transducción y activador de la transcripción (3 α y 3 β). STAT3 α y β están constituidos de forma similar; sin embargo, STAT3 α presenta un dominio de transactivación que STAT3 β no posee.



**Imagen modificada a partir de Trophoblast invasion: the role of intracellular cytokine signalling via signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) por J S Fitzgerald et al, 2008.*

SOCS3

SOCS3 es una proteína que es fuertemente inducido por una variedad de citoquinas y otros estimuladores, incluyendo la IL-6, el factor estimulante de colonias de granulocitos, la eritropoyetina, la leptina, el LIF y los lipopolisacáridos. Luego es traducida por STAT3 en el núcleo celular (27).

Esta proteína pertenece a la familia CIS/SOCs, en donde parte de su estructura presentan un dominio central SH2, el cual determina el objetivo de cada proteína CIS o SOCS. Los dominios SH2 de SOCS3 se unen en los residuos de la tirosina fosforilada en los receptores de citoquinas activadas. SOCS3 se une a receptores de citoquinas relacionadas con gp130, incluyendo la tirosina 757 fosforilada (Tyr757) residuo de gp130, la Tyr800 residuo del receptor de IL-12, y Tyr985 del receptor de leptina. Además, SOCS3 tiene una región N-terminal que inhibe la

actividad de JAK a través de la unión con los receptores de citoquinas. Esta área se conoce como regiones inhibidoras de quinasa (KIR, por sus siglas en inglés). El KIR ha sido propuesto para funcionar como un pseudosustrato, y es esencial para la represión de señales de citoquinas. El dominio SH2 de SOCS3 no tiene una alta afinidad para el bucle de activación de JAK, sin embargo, el KIR de SOCS3 tiene una mayor afinidad para el dominio quinasa de JAK2 que el KIR de SOCS1. Debido a que los receptores a los que se une SOCS3 activan principalmente a STAT3, es que SOCS3 es un inhibidor relativamente específico para STAT3 (27-29), por lo tanto, las proteínas SOCS forman parte de un circuito de realimentación negativa clásica (30).

En la placenta con deficiencia de SOCS3 se ha observado un exceso en la diferenciación de células gigantes en el trofoblasto. Donde además esta deficiencia de SOCS3, demuestra una alta letalidad embrionaria por defectos placentarios(31).

Vía de señal JAK/STAT durante la implantación, invasión trofoblástica y deciduación.

Como ya se ha comentado en capítulos anteriores, el trofoblasto tiene una gran capacidad proliferativa durante la implantación del blastocisto. Cuando se produce la invasión del trofoblasto el contacto de los tejidos maternos y fetales, de composición antigénica diferente, libera una serie de citoquinas (3).

Se ha conocido recientemente que varias citoquinas y factores de crecimiento, como IL-6, HGF, IL-11, LIF y GM-CSF actúan en la regulación y control de la invasión trofoblástica a través de la vía JAK/STAT. La deficiencia o aumento de alguno de estas moléculas están asociados a patologías relacionadas con la reproducción y la gestación, por ejemplo, el déficit de HGF está ligado a preeclampsia (32).

Se ha observado en estudios realizados que, durante la placentación, existe una alta concentración en la expresión del factor inhibidor de leucemia (LIF), debido a

que cuando el blastocisto invade el epitelio luminal y alcanza el estroma, comienza a sintetizar citoquinas como la IL-1 que, a la vez, induce la expresión de LIF en el endometrio, cuyos receptores se encuentran en el trofoblasto, donde esta citoquina activa STAT3, promoviendo su fosforilación y su translocación al núcleo celular. Esto indica que LIF es el principal mediador de STAT3 in vivo. Esto se infiere, debido a que se ha detectado la presencia de STAT3 en células trofoblásticas invasivas de ratones, concluyendo así que existe una conexión entre la actividad de STAT3 y la invasividad de las células trofoblásticas (32-34).

Durante el período de implantación y decidualización, las células del citotrofoblasto expresan altos niveles de IL-6 e incrementan la actividad de las metaloproteinasas (MMP-2 y MMP-9), las cuales son importantes en la invasión e implantación del blastocisto. La IL-11 es capaz de promover la migración de las células del trofoblasto sin alterar la velocidad de su proliferación; esta actividad es probablemente realizada a través de la estimulación de la fosforilación de STAT3 (35).

En el trofoblasto, previo al tratamiento de LIF, las STATs citoplasmáticas se fosforilan por la activación de JAK (tirosina quinasa) a través de la fosforilación en STAT3 (tyr705). Tras la dimerización, las STATs son trasladadas al núcleo, donde actúan como factores de transcripción. Una de las proteínas transcritas es el SOCS3 que pueden modular negativamente la duración de la respuesta de señalización de citoquinas mediante la unión a los residuos de fosfotirosina en JAK. LIF suprime sus propios efectos por medio de la regulación de la retroalimentación negativa de la vía JAK-STAT a través de SOCS3. En las células trofoblásticas, la expresión de STAT3-dependiente de SOCS3 es esencial para la regulación negativa de la diferenciación de las células gigantes del trofoblasto (35).

Vía de señal JAK/STAT y su relación con la Pre-eclampsia

Se cree que la placenta juega un rol central en la fisiopatología de la pre-eclampsia, un desorden multisistémico e hipertensivo único durante el embarazo humano. Múltiples líneas de evidencia muestran que hay un aumento de la respuesta inflamatoria en la placenta de mujeres con pre-eclampsia. Estudios in vitro también han demostrado alteración en la producción de citoquinas pro-inflamatorias por el tejido placentario y las células trofoblásticas de mujeres con preeclampsia en comparación con mujeres sanas, incluyendo el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), IL-6 e IL-8 (36).

Las citoquinas producidas por la placenta no sólo regulan la función del trofoblasto in situ, sino que también podría contribuir a sus niveles circulantes durante el embarazo. Se cree que la desregulación de la producción de citoquinas resulta en una respuesta inflamatoria excesiva en la pre-eclampsia y/o viceversa (36).

Dado a que la preeclampsia se produce por una mala placentación y una escasa invasión del sincitiotrofoblasto en las arterias espirales maternas, se genera una disminución de oxígeno, generando un ambiente hipóxico, por lo que se produce un estrés oxidativo, provocando un daño en las células trofoblásticas, generando así una respuesta inflamatoria. Se cree que la reducción de la expresión y actividad de SOCS3 podrían contribuir al incremento de la respuesta inflamatoria en el trofoblasto placentario, especialmente de la citoquina IL-6. Además, se ha observado que existe un aumento en la expresión del ARNm de la IL-6 en las células endoteliales en enfermedades vasculares de la placenta, en comparación con un embarazo normal. Sin embargo, también se ha comprobado que existe un aumento en la expresión de SOCS3 en las mismas células endoteliales en enfermedades vasculares de la placenta. Esto genera una disyuntiva en lo que respecta la expresión de SOCS3 en enfermedades placentarias como la preeclampsia (37-39).

3. Matriz de Operacionalización de Objetivos.

Objetivo General y Específicos.

a. Objetivo General.

- Determinar la presencia de STAT3 y SOCS3 en placentas de mujeres con Preeclampsia Tardía con y sin Doppler de Arterias Uterinas alterado del Hospital Carlos Van Buren de Valparaíso.

b. Objetivos Específico

- i. Identificar el perfil clínico de las madres diagnosticadas con preeclampsia tardía y relacionarlas con el Doppler de arterias uterinas.
- ii. Identificar las características morfológicas de las placentas obtenidas en el estudio de madres con diagnóstico de preeclampsia tardía y relacionarlas con el Doppler de arterias uterinas.
- iii. Determinar la intensidad de STAT3 y SOCS3 a través de técnicas inmunohistoquímicas en cortes de placentas obtenidas en el estudio de madres con diagnóstico de preeclampsia tardía y relacionarlas con el Doppler de Arterias Uterinas.

Variables de Estudio

Objetivo 1: “Identificar el perfil clínico de las madres diagnosticadas con preeclampsia tardía y relacionarlas con el Doppler de arterias uterinas”.

Variable	Definición	Indicador
Edad Materna	Número de años de las gestantes transcurridos desde la fecha de nacimiento hasta el día del parto, representados en rangos.	15-19
		20-24
		25-29
		30-34
		>35

Variable	Definición	Indicador
Paridad	Antecedente de paridad	Primípara
		Múltipara

Variable	Definición	Indicador	Subindicador
IMC	Índice de masa corporal, calculado a través de: $\frac{\text{Peso (en Kg)}}{\text{Talla}^2 \text{ (en Mt)}}$	< 20	Enflaquecida
		20 – 24.9	Normal
		25 – 29.9	Sobrepeso
		≥ 30	Obesa

Variable	Definición	Indicador	Subindicador
Edad Gestacional	Duración de la gestación a partir del primer día del último período menstrual normal, expresada en semanas y días.	≤ 12 Semanas	Primer Trimestre
		13 – 24 semanas	Segundo Trimestre
		≥ 25 semanas	Tercer Trimestre

Variable	Definición	Indicador
Comorbilidad Materna	Patologías asociadas a la Preeclampsia.	HTAcr
		Diabetes gestacional

Objetivo 2: “Identificar las características morfológicas de las placentas obtenidas en el estudio de madres con diagnóstico de preeclampsia tardía y relacionarlas con el Doppler de arterias uterinas”.

Variable	Definición	Indicador
Peso Placenta	Peso de la placenta por gramos obtenido mediante pesa digital.	<533,33 gramos
		533,33-566,66 gramos
		>566,66 gramos

Objetivo 3: “Determinar la intensidad de STAT3 y SOCS3 a través de técnicas inmunohistoquímicas en cortes de placentas obtenidas en el estudio de madres con diagnóstico de preeclampsia tardía y relacionarlas con el Doppler de Arterias Uterinas”.

Variable	Definición	Indicador
Intensidad inmunohistoquímica STAT3	Cuantificación de densidad óptica de los tejidos a través del programa Zeiss KS-300 en muestras tomadas en un solo día.	[10000 – 15000[
		[15000 – 20000[
		[20000 – 25000[
		[25000 – 30000[
		[30000 – 35000[
		[35000 - 40000]

Variable	Definición	Indicador
Intensidad inmunohistoquímica SOCS3	Cuantificación de densidad óptica de los tejidos a través del programa Zeiss KS-300 en muestras tomadas en un solo día.	[0 – 2000[
		[2000 – 4000[
		[4000 – 6000]
		[6000 - 8000]

4. Hipótesis

La mayor presencia de STAT3 y SOCS3 en células trofoblásticas de las vellosidades placentarias de gestantes con Preeclampsia Tardía, se relaciona con la alteración del Doppler de Arterias Uterinas.

5. Método

Anexo 1:

Unidad de estudio: Placenta N° _____		
<u>Objetivo 1:</u> "Identificar el perfil clínico de las madres diagnosticadas con preeclampsia tardía y relacionarlas con el Doppler de arterias uterinas".		
Perfil Clínico de las madres diagnosticadas con preeclampsia tardía.		
Edad Materna	15 – 19	
	20 – 24	
	25 – 29	
	30 – 34	
	> 35	
Paridad	Primípara	
	Múltipara	
IMC	Enflaquecida	
	Normal	
	Sobrepeso	
	Obesa	
Edad Gestacional	< 12 Semanas	
	13 – 24 semanas	
	≥ 25 semanas	
Comorbilidad materna	HTAcr	
	DG	

Unidad de estudio: Placenta N° ____

Objetivo 2: "Identificar las características morfológicas de las placentas obtenidas en el estudio de madres con diagnóstico de preeclampsia tardía y relacionarlas con el Doppler de arterias uterinas".

Características morfológicas		
Peso	<533,33 gramos	
	533,33-566,66 gramos	
	>566,66	

Unidad de estudio: Placenta N° _____

Objetivo 3: “Determinar la intensidad de STAT3 y SOCS3 a través de técnicas inmunohistoquímicas en cortes de placentas obtenidas en el estudio de madres con diagnóstico de preeclampsia tardía y relacionarlas con el Doppler de Arterias Uterinas”.

Intensidad inmunohistoquímica de STAT3 y SOCS3		
Intensidad inmunohistoquímica STAT3	[10000 – 15000[
	[15000 – 20000[
	[20000 – 25000[
	[25000 – 30000[
	[30000 – 35000[
	[35000 - 40000]	
<hr/>		
Intensidad inmunohistoquímica SOCS3	[0 – 2000[
	[2000 – 4000[
	[4000 – 6000]	
	[6000 - 8000]	

6. Resultados.

Tabla de resultados para valor inmunohistoquímico de STAT3 y SOCS3 en DAU normal y alterado respectivamente.

- STAT3

DAU Normal

Placa	Valor STAT3
1C	30547.82
1P	34989.70
8C	19487.69
8P	9418.83
9C	20727.90
9P	23712.01
10C	19361.00
10P	23510.86
PROMEDIO	22719.47

DAU Alterado

Placa	Valor STAT3
2P	12221.76
4C	34531.30
4P	27265.98
5C	20136.90
5P	16595.91
6C	15692.92
7P	8590.52
12P	14791.50
PROMEDIO	18728.35

- **SOCS3**

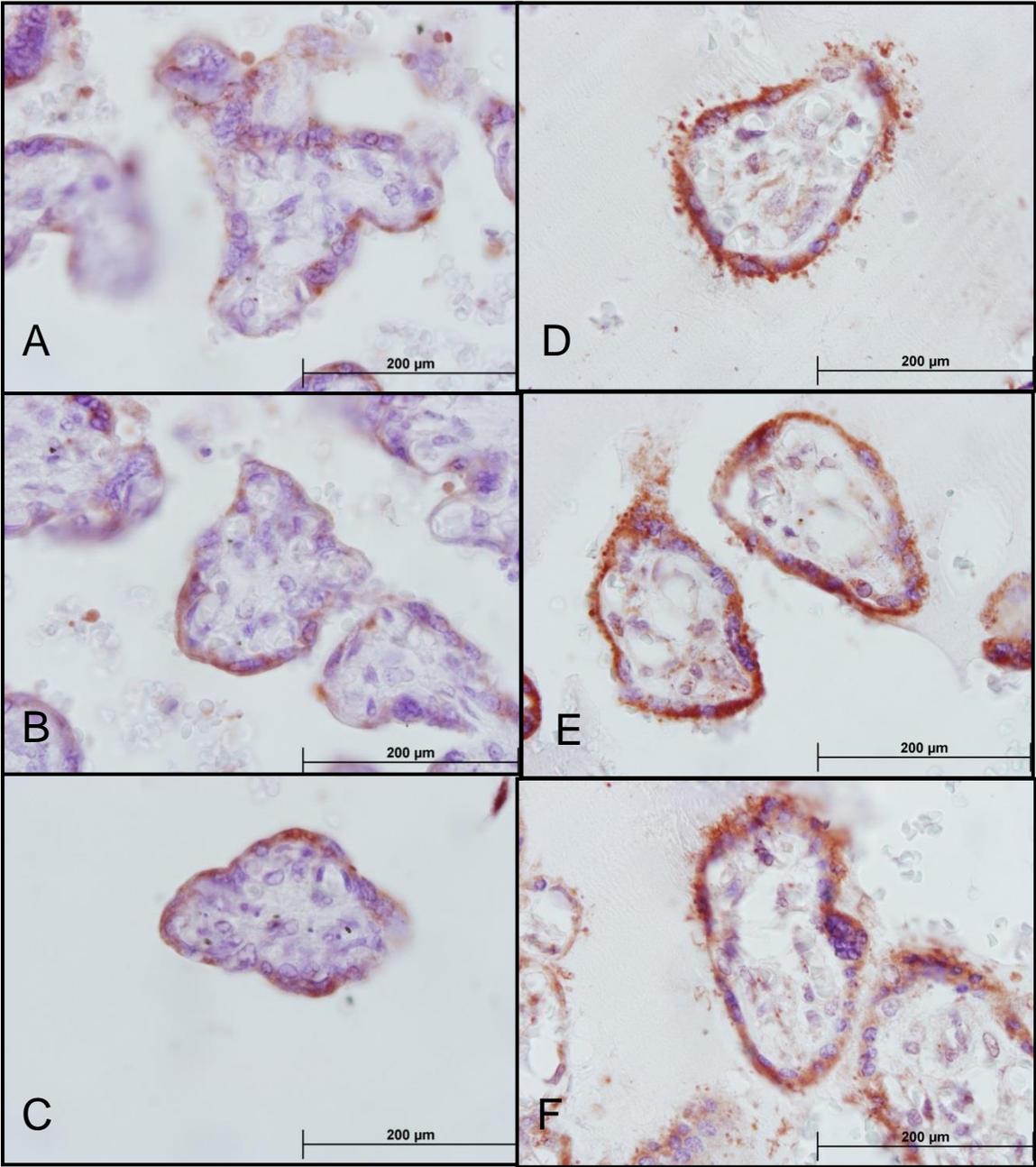
DAU Normal

Placa	Valor SOCS3
1C	3256.65
1P	3897.95
8C	7983.43
8P	6458.21
9P	1589.98
10C	1442.35
10P	7564.67
PROMEDIO	4599.034286

DAU Alterado

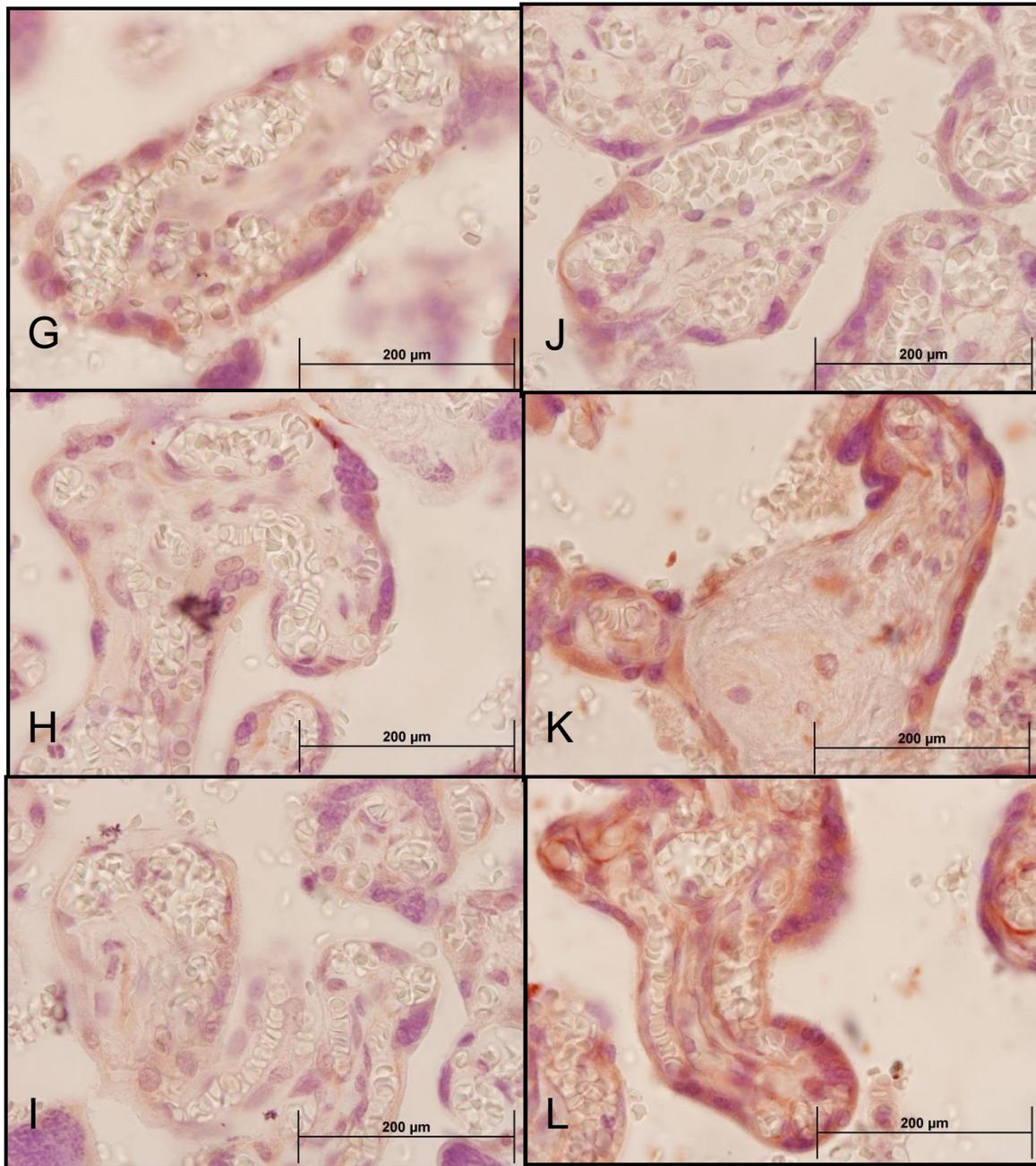
Placa	Valor SOCS3
2P	2435.42
4C	2145.56
4P	843.54
5C	7895.23
5P	1467.31
6C	3124.53
7P	1269.51
12P	3478.28
PROMEDIO	2832.4225

Imágenes representativas de Inmunohistoquímica STAT3.



A,B,C Placa 12 periférico; D,E,F Placa 1 central.

Imágenes representativas de Inmunohistoquímica SOCS3.



G,H,I,J Placa 11 periférico; K,L Placa 8 central.