

## Implicación de las células natural *killer* en abortos de repetición

### Involvement of natural killer cells in recurrent miscarriages

Mizael Lázaro Cubas Acevedo <sup>1</sup> , Alexander Adán Padrón <sup>2</sup> , Ada Acevedo González <sup>3</sup> , Aliuska Rech Martínez <sup>3\*</sup> , Juan Alberto Pulido Herrera <sup>4</sup> 

<sup>1</sup> SAMUR - Protección Civil. Madrid, España.

<sup>2</sup> Empresa de Biotecnología "Miltenyi Biotec". Madrid, España.

<sup>3</sup> Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Facultad Tecnología de la Salud. La Habana, Cuba.

<sup>4</sup> Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Facultad de Estomatología. La Habana, Cuba.

\*Autor para la correspondencia:  
[aliuskarech@infomed.sld.cu](mailto:aliuskarech@infomed.sld.cu)

Recibido: 16 de enero de 2023  
Aceptado: 31 de marzo de 2023

#### Citar como:

Cubas-Acevedo ML, Adán-Padrón AA, Acevedo-González A, Rech-Martínez A, Pulido-Herrera JA. Implicación de las células natural *killer* en abortos de repetición. Revista Cubana de Tecnología de la Salud [Internet]. 2023 [citado:];14(1):4025. Disponible en: <http://www.revtecnologia.sld.cu/index.php/tec/article/view/4025>

#### RESUMEN

**Introducción:** el aborto espontáneo recurrente afecta entre el 1-3% de las parejas. En los últimos años se han estado estudiado las células naturale *killer* presentes en la sangre periférica, con la intención de saber si tienen alguna relación con estos abortos. **Objetivo:** identificar la implicación de las células natural *killer* en abortos de repetición en pacientes del Servicio de Salud de Castilla - La Mancha en el 2016. **Método:** se realizó un estudio prospectivo, longitudinal y descriptivo en la población de 11 mujeres, divididas en el momento del estudio en, Grupo A: mujeres no gestantes, con historia obstétrica de no haber presentado abortos de repetición, Grupo B: mujeres gestantes, con historia obstétrica de no haber presentado abortos de repetición y Grupo C: mujeres no gestantes, con historia obstétrica de abortos de repetición. Se realizó la citometría de flujo para el análisis de la presencia de las células T, B y subpoblaciones de células natural *killer*. **Resultados:** se observaron diferencias en la presencia de las subpoblaciones de células natural *killer* entre los diferentes grupos. Los perfiles de las subpoblacionales de células natural *killer* en la población de estudio reflejaron estar entre los límites normales 5%- al 15%; sin embargo, el Grupo C resultó el de mayor porcentaje con 10,03%. **Conclusiones.** se identificó la implicación de las células natural *killer* en abortos de repetición en pacientes del Servicio de Salud de Castilla - La Mancha, lo cual mostró los perfiles de células natural *killer* marcadores pronósticos de aborto de repetición.

**Palabras clave:** Aborto, Aborto a repetición, Células Asesinas Naturales

## ABSTRACT

**Introduction:** recurrent miscarriage affects 1-3% of couples. In recent years, natural killer cells present in peripheral blood have been studied with the intention of finding out if they have any relationship with these miscarriages. **Objective:** to identify the involvement of natural killer cells in repeat abortions in patients of the Castilla - La Mancha Health Service in 2016. **Method:** a prospective, longitudinal and descriptive study was performed in the population of 11 women, divided at the time of the study in, Group A: non-pregnant women, with obstetric history of not having presented repeated abortions, Group B: pregnant women, with obstetric history of not having presented repeated abortions and Group C: non-pregnant women, with obstetric history of repeated abortions. Flow cytometer was performed to analyze the presence of T cells, B cells and natural killer cell subpopulations. **Results:** differences in the presence of natural killer cell subpopulations were observed between the different groups. The profiles of the natural killer cell subpopulations in the study population reflected to be between the normal limits of 5% to 15%; however, Group C resulted in the highest percentage with 10.03%. **Conclusions:** the implication of natural killer cells in repeat abortions in patients of the Castilla-La Mancha Health Service was identified, which showed natural killer cell profiles as prognostic markers of repeat abortion.

**Keywords:** Abortion, Repeat Abortion, Natural Killer Cells

## INTRODUCCIÓN

La definición clásica de aborto de repetición (AR) es el de dos o más pérdidas consecutivas de gestaciones clínicas, antes de las semana 20 y el peso fetal  $\leq 500$  gr. Sin embargo, no existe consenso y algunos estudios aceptan que estas pérdidas pueden no ser consecutivas, pues el hecho de haber tenido algún recién nacido vivo antes o entre los abortos, no parece disminuir la posibilidad de volver a abortar.<sup>1</sup>

En esta definición no se incluyen las gestaciones molares ni ectópicas, y no existe una clasificación específica sobre las gestaciones (bioquímicas, determinados por elevación cuantitativa de gonadotropina coriónica en suero materno ( $\beta$ hCG)). Estas últimas deberían ser consideradas al momento de realizar una evaluación.<sup>2</sup>

El 50% de los AR van a quedar sin diagnóstico etiológico, y por tanto, no se podrán tratar de forma dirigida. Las parejas que intentan el embarazo tendrán un 70% de niños nacidos vivos. Situación condicionada por la edad materna, de modo que la posibilidad de sufrir un nuevo aborto en mujeres  $<30$  años está por debajo de un 35%, mientras que las mujeres  $\geq 40$  años sería de 50-60%.<sup>1-4</sup>

Se ha reconocido que la respuesta inmune materna es muy compleja, por lo que se ha renovado el interés en ciertos elementos del sistema inmune materno, que están activados en el embarazo normal. Las células *Natural Killer* (NK) maternas, estarían de forma marcada suprimidas en un embarazo normal.<sup>5-7</sup>

Las células NK,<sup>8</sup> son un tipo de linfocitos granulares grandes, que suponen del 5-15% de las células linfoides en sangre y carecen de marcadores de linfocitos T y B. Son considerados linfocitos "inespecíficos", pertenecientes al sistema de inmunidad natural, identificadas, células con capacidad innata de destrucción de células tumorales y dañadas.

Juegan un papel importante las células NK en la implantación del embrión y en el éxito del embarazo. Relacionándose con la fisiopatología del fallo reproductivo, con la tolerancia materna, la vasculogénesis y el crecimiento del embrión.

Estas células constituyen la población de leucocitos predominante en la mucosa uterina, predictores para la aparición de abortos a repetición. Compuestas por al menos cuatro subpoblaciones diferentes de células NK al tener la capacidad secretar diferentes citoquinas: convencionales, tímicas, residentes en tejido hepático y cutáneo y en tejido uterino.<sup>9,10</sup>

Las cuatro subpoblaciones, al tener en cuenta la variabilidad de la expresión de las moléculas CD16 y CD 56, entre las diferentes subpoblaciones de células NK, permite la clasificación en: CD56<sup>bright</sup>, CD56<sup>dim</sup> CD16-, CD56<sup>dim</sup> CD16+, CD56-.<sup>11, 12</sup> Los mecanismos inmunológicos han sido descritos por jugar un papel significativo en los problemas reproductivos (abortos de repetición, infertilidad y fallos de implantación).

Se hace necesario el estudio de marcadores potenciales de células NK, para el diagnóstico de aborto de repetición de causa desconocida. La investigación tiene el propósito de identificar la implicación de las células natural *killer* en abortos de repetición en pacientes del Servicio de Salud de Castilla - La Mancha en el 2016.

## MÉTODO

Se realizó un estudio prospectivo, longitudinal y descriptivo. La población objeto de investigación estuvo conformada por 11 pacientes entre 18-38 años con antecedentes de al menos dos abortos atendidas en del Servicio de Salud de Castilla-La Mancha (SESCAM), 2016, la cual se dividió en tres grupos:

- Grupo A (cuatro pacientes): mujeres no gestantes, en el momento del estudio, con historia obstétrica de no haber presentado abortos de repetición.
- Grupo B (tres pacientes): mujeres gestantes, en el momento del estudio, con historia obstétrica de no haber presentado abortos de repetición.
- Grupo C (cuatro pacientes): mujeres no gestantes, en el momento del estudio, con historia obstétrica de abortos de repetición.

Criterios de Exclusión:

Mujeres con antecedentes de:

- cariotipos anormales
- trastornos trombofílicos.
- alteraciones anatómicas (miomas uterinos, malformaciones uterinas, endometriosis diagnosticada)
- alteraciones cromosómicas detectadas en restos abortivos

La medición en sangre de las células NK, se realizó a través del análisis de marcadores de superficie en muestras de sangre periférica por Citometría de Flujo entre las 4-48 horas de la recolección de la muestra. Se calculó la media y la desviación estándar de los valores en las subpoblaciones, de células NK en los diferentes grupos de estudio.

La extracción de la muestra de sangre fue realizada en mitad de fase lútea del ciclo menstrual, en mujeres del Grupo A y C. En las mujeres del Grupo B, se recogieron las muestras en el primer y segundo trimestre de embarazo.

La fuente de información fue la historia clínica de las pacientes que participaron. Se obtuvieron los datos de las variables de estudio: número de embarazos, número de abortos consecutivos, resultados de la Citometría de flujo. El análisis estadístico se realizó con el programa Epidat, los datos obtenidos se registraron en una base de datos mediante el programa Microsoft Excel 365.

Se solicitó la evaluación del protocolo al Comité Ético de Investigación Clínica y se informaron

los resultados al comité de investigación del área. Todas las mujeres incluidas en el estudio, firmaron el consentimiento informado, lo que les permitió someterse a las pruebas necesarias realizadas durante el estudio.

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados obtenidos por la Citometría de flujo en los tres Grupos de estudio permitieron el análisis fenotípico y funcional de las células T, B. Además de las subpoblaciones de NK identificadas en las muestras de sangre extraídas.

Se obtuvieron imágenes en dos dimensiones (Dot-Plot) y en una dimensión (Histograma), en las que se pudieron distinguir las diferentes poblaciones celulares marcadas. Se alcanzaron distintos perfiles de subpoblacionales de células NK, en función del origen de la muestra y del estado de gestación o no de mujeres incluidas en el estudio.

En el Grupo A, se encontraron valores normales de las subpoblaciones de las células NK que se corresponden con CD56/CD16+ y NKTs entre 3,57% y el 2,37% respectivamente. Tabla 1. Este resultado coincide con López-Naranjo,<sup>11</sup> el cual afirma que las células NK juegan un papel esencial en el éxito reproductivo, aunque la función no se encuentra bien definida.

**Tabla 1.** Distribución de las mujeres Grupo A según subpoblaciones de células NK. SESCOAM. 2016

Grupos	CD45+	CD3 +	CD4 +	CD8+	CD56/CD16+	CD19+	NKTs
Grupo A	41,03%	29,72%	4,93%	22,49%	3,57%	6,47%	2,37%

En el Grupo B estudiado se observó que la presencia del CD56/CD16+ es de 8,46% en las muestras de sangre procesadas. En cuanto a las células NKs la presencia fue de 1,16%. Ambos resultados están dentro de los valores normales de 5-15%. Tabla 2.

Esto confirma la teoría de los estudios de Szekeres-Bartho,<sup>12</sup> al demostrar que el sistema inmune materno, no está suprimido sino más bien, desplazado a favor de una respuesta inmune tipo 2 (mediada por anticuerpos) sobre la tipo 1 (mediada por células). Se considera que la inmunidad mediada por células puede ser causante de los abortos.

**Tabla 2.** Distribución de las mujeres Grupo B según subpoblaciones de células NK. SESCOAM. 2016

Grupo	CD45+	CD3 +	CD4 +	CD8+	CD56/CD16+	CD19+	NKTs
Grupo B	46,07%	29,69%	7,31%	17,30%	8,46%	7,68%	1,16%

En la tabla 3 se observó la presencia del CD56/CD16+ es de 10,03% en las muestras de sangre procesadas. En cuanto a las células NKs fue de 1,40%. Los resultados obtenidos están dentro de los valores normales de 5-15%. Similares fueron hallados por Lopez-Naranjo,<sup>11</sup> quien destacó que las mujeres con fallo de implantación y pérdidas recurrente de embarazo tenían un aumento significativo de células NK periféricas mayor que el 15%.

**Tabla 3.** Distribución de las mujeres Grupo C según subpoblaciones de células NK. SESCOAM. 2016

Grupos	CD45+	CD3 +	CD4 +	CD8+	CD56/CD16+	CD19+	NKTs
Grupo C	32,04%	17,22%	4,78%	9,88%	10,03%	4,26%	1,40%

Al comparar los resultados de los tres grupos en los análisis por Citometría de Flujo, entre el grupo A y B existieron diferencias en las poblaciones de Linfocitos T helper. En el caso del

grupo C, disminuyen en gran medida los Linfocitos T, en específico los T Citotóxicos, las NKs y aumentan las CD56/CD16+.

El resultado coincide con el estudio realizado por Feria y Ruiz,<sup>13</sup> muestran una diferencia significativa entre CD56+CD16+, grupos con AR y fértiles. Expresan tener mayores niveles de NK en mujeres con abortos recurrentes que en las fértiles. El porcentaje de las células NK en las muestras de sangre periférica analizadas por Citometría de Flujo pero en los tres grupos se mantuvo dentro de los valores normales (5%-15%) en las poblaciones de CD56/CD16+ y NKT.

Parra-Ortega,<sup>14</sup> no concuerda al afirmar en un estudio que la determinación y cuantificación de las células NK (CD16+ CD56+), es 29,67%, en los leucocitos de sangre periférica. Además de valores obtenidos de las células NK son superiores en el valor de la media en comparación con lo reportado en investigaciones realizadas en Holanda de 14%; y en China de 18%.

Algunos estudios, han mostrado que mujeres con abortos de repetición muestran una elevada actividad y número de células NK, en sangre periférica y endometrio. Asimismo, la relación entre niveles de NK alterados en sangre periférica y abortos de repetición.<sup>15</sup> Se reporta un incremento en el número de células NK durante la fase lútea y la citotoxicidad reportada por estar baja durante esta fase del ciclo menstrual.<sup>13</sup>

**Tabla 4.** Resultados de la Citometría de flujo según grupos de estudio y marcadores

Grupos	CD45+	CD3 +	CD4 +	CD8+	CD56/CD16+	CD19+	NKs
Grupo A	41,03%	29,72%	4,93%	22,49%	3,57%	6,47%	2,37%
Grupo B	46,07%	29,69%	7,31%	17,30%	8,46%	7,68%	1,16%
Grupo C	32,04%	17,22%	4,78%	9,88%	10,03%	4,26%	1,40%

## CONCLUSIONES

Se identificó la implicación de las células natural killer en abortos de repetición en pacientes del Servicio de Salud de Castilla - La Mancha. Lo cual indicó que los perfiles de células natural killer como marcadores pronósticos de aborto de repetición.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Rodríguez-Purata Jorge, Cervantes-Bravo Enrique. Conceptos básicos en inmunología de la reproducción: revisión narrativa de la bibliografía. Ginecol. obstet. Méx. [Internet]. 2020 [citado 2023 marz 31] ; 88( 10 ): 692-699. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0300-90412020001000692&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0300-90412020001000692&lng=es).
- Colley E, Hamilton S, Smith P, Morgan NV, Coomarasamy A, Allen S. Potential genetic causes of miscarriage in euploid pregnancies: a systematic review. Human reproduction update. [Internet]. 2020 [citado 2023 marz 31] ;25(4):452-72. Disponible en: <https://biotechmagazineandnews-com.cdn.ampproject.org/v/s/biotechmagazineandnews-com/el-sistema-inmune-es-diferente-entre-el-primer-y-el-segundo-embarazo/amp/>
- Munné S, et al. Preimplantation genetic testing for aneuploidy versus morphology as selection criteria for single frozen-thawed embryo transfer in good-prognosis patients: a multicenter randomized clinical trial. Fertil Steril. [Internet].2019 [citado 2023 marzo 31]; 112 (6): 1071-79.e7. Disponible en: <http://doi:10.1016/j.fertnstert.2019.07.134>
- Pandey D, Gupta S. Current Update on Recurrent Pregnancy Loss. Journal of Basic and Clinical Reproductive Sciences. [Internet]. 2019January-June [citado 2023 marz 31];8(1). Disponible en: <http://doi.org/10.4103/2278-960X.194515>
- Fernández RJM. El sistema inmune es diferente entre el primer y el segundo embarazo. [Internet]. 24 junio 2022. 2019 [citado 2023 marzo 31] Disponible en: <https://biotechmagazineandnews-com.cdn.ampproject.org/v/s/biotechmagazineandnews-com/el-sistema-inmune-es->

- [diferente-entre-el-primer-y-el-segundo-embarazo/amp/](#)
6. Sojka DK, et al. Tissue-resident natural *killer* (NK) cells are cell lineages distinct from thymic and conventional splenic NK cells. [Internet]. 2019 [citado 2023 marzo 31] eLife 3:e01659. Disponible en: <https://doi.org/10.7554/eLife.01659>
  7. Kinder J, et al. El agotamiento funcional de las células T CD8 + anula la aloinmunización con antígenos fetales inducida por el embarazo. Cell-Reports. [Internet]. junio 2020 [citado 2023 marzo 31]; 31(12): 107784. 2019 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107784>
  8. Ávila DS, Gutiérrez GJ. Aborto recurrente. Rev Medicina. Costa Rica [Internet]. marzo de 2017 [citado 2023 marzo 9]; 34(1): 226-236. Disponible en: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1409-00152017000100226&lng=en](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152017000100226&lng=en)
  9. Alarcón EA. Estudio de la inmunidad celular como biomarcador en el aborto de repetición y fallo de implantación recurrente inexplicables [Trabajo Fin de Estudios, Universidad Europea de Madrid]. Repositorio de Trabajos Fin de Estudios TITULA. 2022 [citado 2023 marzo 9];. Disponible en : <https://titula.universidadeuropea.com/handle/20.500.12880/2699?show=>
  10. Sojka DK, et al. Tissue-resident natural *killer* (NK) cells are cell lineages distinct from thymic and conventional splenic NK cells. [Internet]. 2014 [citado marzo 2023] eLife 3:e01659. Disponible em: <https://doi.org/10.7554/eLife.01659>
  11. López-Naranjo ME. Caracterización de los efectos producidos por el sistema inmunitario sobre el fallo de implantación y pérdidas recurrente de embarazo. Trabajo fin de máster en biología y tecnología aplicada a la reproducción humana asistida. Universidad Europea de Madrid. Alcobendas [Internet]. 2022. [citado 2023 marzo 9] Disponible en: [https://titula.universidadeuropea.com/bitstream/handle/20.500.12880/2695/TFM\\_MariaEugeniaLopezNaranjo.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://titula.universidadeuropea.com/bitstream/handle/20.500.12880/2695/TFM_MariaEugeniaLopezNaranjo.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  12. Szekeres-Bartho J.. Progesterone and immunology. Immunology in Obstetrics and Gynaecology [Internet]. October 2019 [citado 2023 marzo 9]; 60: 17-23 Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2019.07.001>
  13. Feria-Delgado C, Ruiz-Molina AM. Las células Natural *Killer* en el aborto espontáneo recurrente. revista de ciencias de la universidad de Pablo Olavide MoleQla [Internet]. 2021 [citado 2023 marzo 9]; 24. Disponible en <http://www.upo.es/MoleQla>
  14. Parra-Ortega I, Salceda-Rangel KS., Nájera-Martínez N, López-Martínez B, Ortiz-Navarrete V, Olvera-Gómez I. Determinación y cuantificación de subpoblaciones de linfocitos T y células natural *killer* en sangre periférica de individuos sanos por citometría de flujo. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. [revista en la Internet]. 2019 Abr [citado 2023 Mar 31] ; 76( 2 ): 66-78. Disponible en: <https://doi.org/10.24875/bmhim>
  15. Díaz P, von Bischoffshausen S, Bustos B, Jensen R, Arraztoa JA, Donoso M. Revisión de la utilidad del uso de progesterona en aborto recurrente de causa no precisada. Rev. chil. obstet. ginecol. [Internet]. 2019 Dic [citado 2023 Mar 09]; 84(6): 526-530. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75262019000600526&lng=es](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75262019000600526&lng=es). <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75262019000600526>



Los artículos de **Revista Cubana de Tecnología de la Salud** se compar-  
ten bajo los términos de la Licencia **Creative Commons Atribución-No  
Comercial 4.0. Internacional**