



P-033 - DISMINUCIÓN DEL NÚMERO DE CÉLULAS SUPRESORAS DERIVADAS DE MIELOIDES EN EL TROFOBLASTO DE LA PLACENTA EN LA DIABETES MELLITUS GESTACIONAL. POSIBLE PAPEL DE LA LEPTINA Y GALECTINA 8

T. Vilariño García, M. Tami, L. Hontecillas Prieto, D. García Domínguez, R. Flores Campos, P. Guadix, A. Pérez Pérez y V. Sánchez Margalet

Hospital Universitario Virgen Macarena, Facultad de Medicina, Universidad de Sevilla, Sevilla, España.

Resumen

Introducción y objetivos: La diabetes mellitus gestacional (DMG) es la patología más frecuente durante el embarazo, aumentando la morbimortalidad materno-fetal. La inflamación es una característica común en la DMG, y la inflamación placentaria puede participar en la fisiopatología de la enfermedad. Las células supresoras derivadas de la médula ósea (MDSC, por sus siglas en inglés) son células innatas inmunosupresoras que pueden participar en la tolerancia fetomaterna. Así, se han encontrado niveles elevados de MDSC en la sangre periférica y el cordón umbilical en embarazos normales. Nuestra hipótesis fue que el trofoblasto de la placenta de la DMG podría tener niveles más bajos de MDSC. Además, dado que la expresión de la leptina está aumentada en la placenta de la DMG, planteamos la hipótesis de que la leptina podría disminuir las MDSC. Además, la placenta expresa galectina 8 que es un ligando que recluta y promueve a las MDSC, por lo que la expresión de galectina 8 también fue analizada. Para investigar el posible papel de la leptina, estudiamos su efecto *in vitro* en el número de MDSC en leucocitos aislados de la sangre periférica, y sobre la expresión de galectina 8 en trofoblasto de placentas controles.

Material y métodos: Analizamos placentas (5) de embarazos con DMG y controles sanos (10) obtenidas mediante cesárea programada, para estudiar el número de MDSC y estudiamos los efectos *in vitro* de la leptina en MDSC en leucocitos aislados de donantes sanos en presencia o no de inhibidores de MAPK (PD98059) y PI3K (wormannin) durante 24 h. Las muestras de trofoblasto se cortaron con tijeras en pequeños trozos y se filtraron con gasa doble. Las células fueron incubadas con anticuerpos frente a diferentes marcadores celulares marcados con fluoróforos para análisis por citometría de flujo de las MDSC (CD45+, CD33+, CD11b+, HLA.DR-, CD14+ y CD15+), tanto monocíticas (M-MDSC) CD14+ como granulocíticas (G-MDSC) CD15+. El total de leucocitos se definió por el número de CD45+. La expresión de galectina 8 se determinó por qPCR e inmunoblot. El análisis de la significancia de las diferencias se llevó a cabo por un test de ANOVA seguido de Bonferroni.

Resultados: Observamos que el trofoblasto de la placenta de la DMG contiene un porcentaje más bajo (70%) de MDSC en comparación con el trofoblasto de un embarazo saludable. Además, observamos que, *in vitro*, la leptina disminuyó el número de MDSC en los leucocitos de la sangre periférica, de forma dependiente de la dosis, con un efecto máximo a 100 nM (25% disminución).

Además, encontramos que este efecto es dependiente de MAPK, pero independiente de PI3K, según lo evaluado mediante el uso de inhibidores farmacológicos de ambas vías. Por otro lado, la expresión de galectina-8 está disminuida en el trofoblasto de placentas de diabéticas gestacionales. La leptina (0,1 nM) *in vitro* estimula la expresión de galectina 8 en trofoblasto de placentas controles, pero a dosis altas (1-10 nM) la expresión disminuye significativamente.

Conclusiones: Por lo tanto, las MDSC están disminuidas en el trofoblasto de la placenta de la DMG, y la leptina parece disminuir el número de MDSC *in vitro*, al menos en parte a través de MAPK, y podría mediar en el bajo número de MDSC en trofoblasto de diabéticas gestacionales al disminuir a dosis altas la expresión de galectina 8. En conclusión, la mayor expresión de leptina en el trofoblasto de la DMG puede contribuir al menor número de MDSC, lo que podría ser un posible mecanismo de inflamación placentaria en la DMG.