

PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS EN EL SEGUNDO TRIMESTRE DEL EMBARAZO

Targi Gabriela, Serra M. Teresa

RESUMEN

Introducción: Durante la gestación se produce una tolerancia frente a antígenos semialojénicos. Diversos mecanismos previenen el rechazo inmunológico del feto durante un embarazo para permitir que el mismo llegue a término.

Objetivo: Determinar los parámetros inmunológicos de la inmunidad innata en el segundo trimestre de gestación y evaluar si existe una activación de la misma.

Material y métodos: Estudio prospectivo en el que se incluyó 30 pacientes: 20 cursando segundo trimestre de la gestación y 10 mujeres no gestantes. Se recogieron muestras sanguíneas y se analizaron, determinando: hemograma, PCR, complemento y fagocitos, previa firma de consentimiento informado.

Resultados: Se observó disminución significativa del hematocrito y glóbulos rojos. También se observó disminución de los linfocitos durante la gestación, en comparación con el grupo control. El C3 (Componente 3 del Complemento), presentó correlación positiva al tiempo de gestación y al número de embarazos. Los monocitos, la fagocitosis y lisis celular se vieron aumentadas en las embarazadas con respecto a los controles. Hubo correlación negativa respecto a la edad gestacional para eosinófilos.

Conclusión: El aumento de mediadores de la inmunidad innata en el segundo trimestre de la gestación podrían ser los responsables de los mecanismos inmunológicos involucrados en el sostén, desarrollo y evolución de un embarazo exitoso.

SUMMARY

Introduction: During pregnancy, the body builds up a tolerance to semiallogenic antigens. Diverse mechanisms prevent the immunological rejection of the fetus during a pregnancy to allow it to get to term.

Objective: The aim is to determine the immunological parameters of the decrease in the innate immunity in the second trimester of pregnancy and to evaluate whether there is an activation of this process.

Material And Methods: A prospective study in which 30 patients were analyzed: 20 in the second trimester of pregnancy and 10 non pregnant women. Blood samples were collected and then analyzed, determining: a complete blood count, PCR, complement, and phagocytes, following the signing of the informed consent form.

Results: We observed significant decrease in hematocrit and red blood cells. There was also a decrease in the lymphocytes during gestation in pregnant women compared to the control group. C3 (complement component 3), showed a positive correlation to gestation time and the number of pregnancies. Monocytes, phagocytosis, and cell lysis were greatly increased in pregnant women during check ups. There was a negative correlation between gestational age and eosinophils.

Conclusion: The increase in innate immunity mediators in the second trimester of pregnancy could be responsible for the immunological mechanisms involved in the development and evolution of a successful pregnancy.

Key words: pregnancy, innate immunity, antigens semiallogenic.

PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS EN EL SEGUNDO TRIMESTRE DEL EMBARAZO

Targi Gabriela, Serra M. Teresa

INTRODUCCIÓN

El embarazo es un enigma inmunológico durante el cual el organismo debe prevenir el rechazo de un feto extraño antígenicamente.

El sistema inmunológico interviene activamente para evitar el rechazo del producto de la concepción y a su vez mantener los mecanismos de defensa maternos para combatir procesos infecciosos. (1)(2)(3)(4)(5)(6)(7)

El sistema Inmune materno se encuentra desafiado por los antígenos fetales, generando un estado particular de tolerancia, frente a antígenos semialogénicos, tanto de la madre al feto, como viceversa.

Desde 1953 Medawar introdujo el término de tolerancia inmunológica, siendo el feto un caso especial de trasplante alogénico para el sistema inmune de la madre. Con la hipótesis de que el feto es capaz de sobrevivir porque la interacción entre el feto y la madre es regulada e inhibida, a causa de la pérdida de la expresión de antígenos fetales, o por la supresión funcional de los linfocitos maternos.(3)(4)(7)(10)

Diversos mecanismos previenen el rechazo inmunológico del feto, los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad, clase II, y los de clase I, no se expresan, pero si lo hacen en los citotrofoblastos extravasculares invasivos y las células trofoblásticas endovasculares. Una subserie de MHC clase I, HLA C y HLA-G, los detritos de ellos, en la circulación materna, activan su sistema inmune. Tales partículas serían eliminadas por fagocitosis, activándola.

Estas células T activadas inducen la tolerancia.

Se ha encontrado que la inmunidad humoral y celular estaría deprimida, razón por la cual la inmunidad innata, mediada por leucocitos polimorfonucleares, jugarían un rol importante en esta adaptación,

activando los monocitos (3)(4)(5)(7)

Se han encontrado niveles plasmáticos de factores solubles innatos típicos de respuesta de fase aguda (7)(8) (9)

No todos los componentes del sistema inmune están activados en la circulación materna, la actividad citotóxica, INF, producidos por los NK, estarían disminuidos.

El embarazo se contempla como un estado Th1, aunque diversas citoquinas Th2 son vitales en el embarazo temprano.

Palabras clave: embarazo, inmunidad innata, antígenos, semialogénicos, tolerancia

OBJETIVOS

- Determinar los parámetros inmunológicos de la inmunidad innata en el segundo trimestre de gestación.

- Evaluar si existe una activación de la inmunidad innata durante este período.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, prospectivo y transversal de dos años de duración. Se incluyeron a 20 pacientes con diagnóstico de embarazo cursando segundo trimestre de gestación que consultaron en el servicio de Obstetricia de la Clínica San Jorge de la ciudad de Córdoba (Grupo A) y se utilizaron como control 10 mujeres no gestantes, todas miembros del personal del Servicio de Alergia del Hospital Nacional de Clínicas (Grupo B).

Criterios de inclusión:

- Mujer embarazada en el segundo trimestre de gestación (diagnóstico por
- Fecha de última menstruación y ecografía por médico obstetra).

Criterios de exclusión:

- No presentar al momento de la extracción y en las dos semanas anteriores a la misma, enfermedad infecciosa evidente.



•Sin antecedentes de amenaza de aborto en el embarazo en curso.

Se realizó historia clínica completa y extracción sanguínea, que se procesó al momento de la extracción.

Se dosó: nivel sérico de Complemento (C3, C4, CH 50) y fagocitosis.

El dosaje de C3 y C4 se realizó por Inmunodifusión radial simple ó técnica de Mancini. Se tomaron los siguientes valores como normales: C3 entre 80 a 180 mg % y C4 entre 20 a 40 mg %. La determinación de la actividad Biológica del complemento se realizó con la Técnica hemolítica de Kabat y Meyer, se tomó como valor normal: 25 a 55 UCH 50 por ml.

El hemograma completo; 1 ml de sangre entera extraída por punción venosa, adicionando 20 ul de anticoagulante EDTA tripotásico. Se procesó en un contador hematológico automatizado (Sysmex), para obtener recuento diferencial de cada población celular y plaquetas.

Determinación de fagocitosis por medio de la técnica de NBT, realizado en el Laboratorio del HNC, y el Test de adherencia: se mide por elución de las células que no adhieren a la lana de vidrio (17). Valores Normales de Fagocitosis y lisis: 12 a 25%.

Análisis Estadísticos:

Se realizó estadística descriptiva para el perfil inmunológico de un grupo de mujeres gestantes en el segundo trimestre de embarazo y un grupo control de mujeres sanas no gestantes.

Para la comparación de medias de muestras independientes aplicada a la comparación del perfil inmunológico para ambos grupos descriptos, se realizó la prueba T.

También se utilizó dicha prueba para la comparación de medias de muestras independientes aplicada a la comparación de medias del variable del perfil inmunológico en mujeres gestantes del segundo trimestre clasificadas según el número de gestaciones y según el número de abortos.

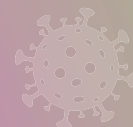
Se utilizó biplot para graficar la relación de diferentes variables de perfil inmunológico entre la muestra problema y el grupo control.

También se correlacionó, entre variables del perfil inmunológico, la edad gestacional.



PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS EN EL SEGUNDO TRIMESTRE DEL EMBARAZO

Targi Gabriela, Serra M. Teresa



	Control		Embarazadas			
Variable	N	Media	n	Media	T	p
Edad	10	30.57	20	26.80	1.69	0.1028
G.rojos	10	4560000.00	20	4114500.00	4.39	0.0001
Hemoglobina	10	12.79	20	13.34	-0.40	0.6964
Hematocrito	10	41.20	20	35.55	3.47	0.0017
Leucocitos	10	8000.00	20	7685.50	0.70	0.4891
Neutrófilos	10	60.90	20	66.25	-2.19	0.0372
Eosinófilos	10	2.10	20	2.10	0.00	>0.9999
Linfocitos	10	35.30	20	28.15	3.02	0.0053
Monocitos	10	1.70	20	3.20	-3.45	0.0018
CH50	10	42.50	20	45.55	-1.40	0.1728
C3	10	138.70	20	133.80	0.59	0.5612
C4	10	31.50	20	32.85	-0.74	0.4632
Fagocitosis	10	26.90	20	59.60	-10.86	<0.0001
Lisis	10	23.40	20	54.15	-13.18	<0.0001

Tabla I: Resultados de la prueba T para la comparación de medias de muestras independientes aplicada a la comparación de parámetros inmunológicos de un grupo de mujeres en su segundo trimestre de embarazo y un grupo control de mujeres sanas no gestantes.

RESULTADOS

Se analiza el comportamiento inmunológico de 20 mujeres en su segundo trimestre de embarazo (edad promedio 27 años) en comparación con 10 controles sanos no gestantes (edad promedio 31 años). La tabla 1 presenta el resultado de la prueba T para la comparación de valores medios de las variables consideradas en este estudio, entre el grupo de mujeres gestantes y el control. En esa tabla no se incluyen los basófilos por comportarse éstos como

una constante en el grupo control. Tampoco se incluyen el tiempo de gestación, el número de gestas ni el número de abortos, por no corresponder o no estar consignados para el grupo control. Las variables que mostraron diferencias entre estos grupos son los glóbulos rojos (disminuídos), el hematocrito (disminuído), neutrófilos (aumentados), linfocitos (disminuídos), monocitos (aumentados), fagocitosis (aumentada) y lisis (aumentada).

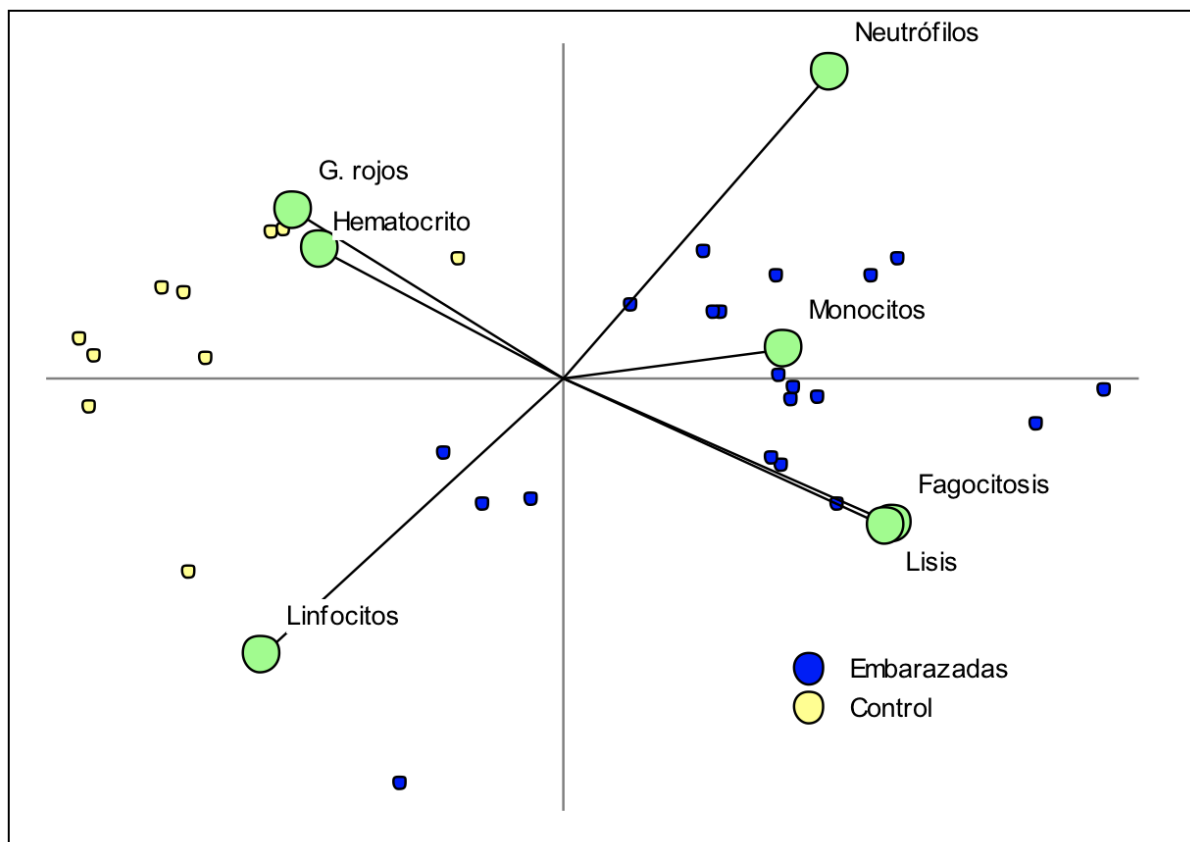


Figura 1: Se muestra embarazadas en su segundo trimestre de gestación y mujeres sanas no gestantes (control) en relación a las diferentes variables de los parámetros inmunológicos.

PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS EN EL SEGUNDO TRIMESTRE DEL EMBARAZO

Targi Gabriela, Serra M. Teresa

La Figura 1 (biplot) muestra en un mismo gráfico los puntos correspondientes a las embarazadas y controles y su asociación con las variables cuyas diferencias de medias resultaron estadísticamente significativas para la prueba T. Es fácil visualizar que los controles han quedado ubicados en el sector izquierdo del gráfico en tanto que las mujeres embarazadas han quedado ubicadas a la derecha del mismo.

Las variables que se ubican hacia la izquierda son glóbulos rojos, hematocrito y linfocitos. La interpretación es que los controles deben tener valores comparativamente altos en todas o algunas de estas variables y/o bajos valores para las que se dirigen en dirección contraria quedando representados, así en esa ubicación (izquierda).

De igual manera, como los neutrófilos, monocitos, fagocitosis y lisis se ubican a la derecha, las mujeres embarazadas deben tener valores altos para todas o algunas de éstas variables y/o valores bajos para las que se dirigen en dirección contraria.

Por otra parte, es muy útil observar que glóbulos rojos y hematocrito están casi superpuestos al igual que fagocitosis y lisis. Esta superposición se corresponde con una correlación positiva alta entre estas variables. Por otra parte glóbulos rojos y hematocrito y fagocitosis y lisis por la otra, apunta en direcciones casi idénticamente opuestas como lo hacen linfocitos y neutrófilos.

Esto se relaciona con una alta correlación negativa entre las variables que tiene direcciones opuestas. Por el contrario, las variables que apuntan en direcciones perpendiculares como linfocitos y glóbulos rojos, se dice que no están correlacionadas. Resumiendo, lisis, fagocitosis, glóbulos rojos y hematocrito conforman un conglomerado de variables que covarian estrechamente. Las primeras dos y las últimas dos covarian positivamente pero mientras que las primeras aumentan las segundas disminuyen y viceversa. En las mujeres gestantes la lisis y fagocitosis están aumentadas mientras que los glóbulos rojos y el hematocrito se observan disminuidos. Un fenómeno similar ocurre con neutrófilos y linfocitos. El incremento de los neutrófilos está acompañado por una disminución de linfocitos. Las mujeres gestantes tienen altos niveles de neutrófilos y bajos niveles de linfocitos.

El análisis de la correlación entre período (semanas) de gestación y parámetros inmunológicos mostró correlación significativa con eosinófilos y C3. En el primer caso la correlación fue negativa mientras que en el segundo fue positiva. Estos resultados deben interpretarse con precaución porque el período de gestación no varió ampliamente sino que fue confinado al segundo trimestre. (Tabla 2)

	r	P
G. rojos	-0.13	0.5735
Hb	0.25	0.2979
Hematocrito	-0.18	0.4426
Leucocitos	0.24	0.3128
Neutrófilos	0.44	0.0510
Eosinófilos	-0.49	0.0284
Basófilos	-0.08	0.7309
Linfocitos	-0.41	0.0733
Monocitos	0.06	0.7917
CH50	0.06	0.7884
C3	0.49	0.0293
C4	-0.28	0.2367
Fagocitosis	0.03	0.8994
Lisis	0.01	0.9754

Tabla II:

Correlaciones entre variables de los parámetros inmunológicos, la edad gestacional

El análisis de la relación entre número de abortos y número de gestas con las variables del perfil inmunológico se realizó comparando los niveles medios de las variables del perfil para los distintos número de abortos y gestas. Para ello se categorizó la variable número de abortos en dos clases: ningún aborto, uno (n=15) o más abortos (n=5). De igual manera el número de gestas se categorizó en dos clases: una gesta (n=12) y dos o más gestaciones (n=8).

PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS EN EL SEGUNDO TRIMESTRE DEL EMBARAZO

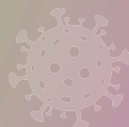
Targi Gabriela, Serra M. Teresa

La tabla 3,

presenta los resultados de la aplicación de la prueba T para la comparación de niveles medios de las variables del perfil inmunológico en mujeres gestantes del segundo trimestre clasificadas según el número de gestaciones. Solo C3 mostró valores medios mayores en mujeres con más de una gestación.

	Dos o más gestaciones		Una gestación		
Variable	n	Media	n	media	p
G. rojos	8	4126250.00	12	4106666.67	0.8757
Hemoglobina	8	12.15	12	14.14	0.4039
Hematocrito	8	36.13	12	35.17	0.7514
Leucocitos	8	7353.75	12	7906.67	0.3418
Neutrófilos	8	64.25	12	67.58	0.2987
Eosinófilos	8	2.50	12	1.83	0.1577
Basófilos	8	0.13	12	0.08	0.7756
Linfocitos	8	29.13	12	27.50	0.6038
Monocitos	8	3.88	12	2.75	0.0515
CH50	8	44.25	12	46.42	0.4337
C3	8	121.88	12	141.75	0.0279
C4	8	32.75	12	32.92	0.9375
Fagocitosis	8	58.00	12	60.67	0.4361
Lisis	8	52.13	12	55.50	0.4034

Tabla III: Resultados de la prueba T para la comparación de medias de muestras independientes aplicada a la comparación de medias de variables de los parámetros inmunológicos en mujeres gestantes del segundo trimestre clasificadas según el número de gestaciones



La Tabla 4.

Presenta los resultados de la aplicación de la prueba T para la comparación de niveles medios de las variables del perfil inmunológico en mujeres gestantes del segundo trimestre clasificadas según el número de abortos.

No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los valores medios para ninguna de las variables analizadas

	1 o más abortos		ningún aborto		
Variable	n	Media	n	media	p
G. rojos	15	4098666.67	5	4162000.00	0.6541
Hemoglobina	15	13.64	5	12.46	0.5343
Hematocrito	15	35.60	5	35.40	0.9535
Leucocitos	15	7665.33	5	7746.00	0.9037
Neutrófilos	15	65.93	5	67.20	0.5670
Eosinófilos	15	2.07	5	2.20	0.8080
Basófilos	15	0.07	5	0.20	0.4163
Linfocitos	15	28.67	5	26.60	0.3502
Monocitos	15	3.00	5	3.80	0.2365
CH50	15	46.27	5	43.40	0.3583
C3	15	138.13	5	120.80	0.0998
C4	15	32.87	5	32.80	0.9809
Fagocitosis	15	59.80	5	59.00	0.8588
Lisis	15	55.07	5	51.40	0.4227

Tabla IV:

Resultados de la prueba T para la comparación de medias de muestras independientes aplicada a la comparación de medias de variables de los parámetros inmunológicos en mujeres gestantes del segundo trimestre clasificadas según el número de abortos



PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS EN EL SEGUNDO TRIMESTRE DEL EMBARAZO

Targi Gabriela, Serra M. Teresa

DISCUSIÓN

Los diferentes parámetros de la Inmunidad Innata, en ambos grupos, embarazadas y no embarazadas, estudiadas en este trabajo, podrían aportar datos interesantes para el entendimiento de un proceso tan complejo como es el de la gestación.

Ambos grupos, presentan un rango de edad similar.

Se estudiaron los valores de hemograma sin que haya diferencia entre ambos grupos en estudio, pero se evidencia una disminución del hematocrito, del conteo de glóbulos rojos en las embarazadas, pudiendo indicar anemia gestacional y/o hemodilución propio del estado de gestación.

Tanto los monocitos, como la fagocitosis y lisis celular estaría muy aumentada en embarazadas con disminución de los linfocitos.

Como hemos postulado en este trabajo, habría un detrimento de los componentes de la inmunidad adquirida, con exacerbación de la innata, siendo protagonista el macrófago, encargado de liberar el factor estimulante de colonias granulocitos macrofágicos, cuya función sería adherir y hacer crecer el blastocisto. Así también como el factor de necrosis tumoral beta, limita la extensión del trofoblasto, siendo este proceso altamente beneficioso, como evidencia Grzeskowiak (18)

Otro hallazgo fue la polarización que presentan los grupos presentados en este estudio, donde los controles tienen valores comparativamente altos de algunas variables (glóbulos rojos, hematocrito, linfocitos), que se correlacionan con niveles disminuidos de fagocitosis, lisis y neutrófilos. Lo contrario sucede en las gestantes, explicando nuevamente el incremento de la inmunidad innata en las mismas, como sostiene Frascoli (19). La decidua es

el sitio de inmigración y desarrollo de linfocitos y sus subpoblaciones, estos tienen función de inmunosupresión, de estimulantes del crecimiento, de procesadores de antígenos y de NK, su disminución se relaciona con la escasa producción de anticuerpos y evita así el rechazo del feto, postulado también por Gade EJ(20) en sus trabajos de investigación.

Un componente de la Inmunidad Innata humoral, que presenta correlación positiva, tanto en las semanas de gestación, como en el número de gestas es el C3, que aumenta proceso de opsonización para fagocitosis.(21)

Una evidencia más del detrimento de la inmunidad celular es la correlación negativa para los valores de eosinófilos, donde a mayor edad gestacional disminuyeron los valores.

Estos hallazgos coinciden con los publicados por Davis D et al, Gade Ej, quienes avalan y sostienen el estímulo de la inmunidad innata .

Los cuales podrían resultar de suma importancia, no solo para evaluar un embarazo normal, sino estudiar y prever causas probables de abortos, o partos prematuros.



CONCLUSIÓN

El aumento de mediadores de la inmunidad innata en el segundo trimestre de la gestación, así como la exacerbación en su función, podrían ser uno de los mecanismos inmunológicos responsables involucrados en el sostén, desarrollo y evolución de un embarazo exitoso, que se suceden desde el mismo momento de la concepción hasta el parto. Cada uno de los componentes juega un rol fundamental en este delicado equilibrio inmunológico.

Sería muy importante realizar posteriores estudios para poder relacionar un déficit de estos parámetros, o una exaltación exagerada, como posible causa de abortos, esterilidad conyugal de origen inmunológico, o patologías propias del embarazo, como eclampsia, parto prematuro.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Lockley R.: *F. Compendio de enfermedades Alérgicas e Inmunológicas*. Edición 1999.
- 2) Roitt, I. M.: *Inmunología Fundamentos*. Edición 1998.
- 3) Muiño JC. *Inmunopatogenia de los abortos recurrentes*. *Revista Alergia e Inmunología Clínica*. 16: 132-135. Año 1999.
- 4) Mazzolli AB: *Inmunología del Aborto Recurrente*. *Actual ginecol Obstet*. 4: 237-248. Año 1999.
- 5) Kortebari G et col: *Immunological studies on patients with unexplained spontaneous abortions*. *Immunobiology of Reprod*. Pag 43. Año 1993.
- 6) Giudice LC: *Growth factors and growth modulations in human uterine endometrium: their potential relevance to reproductive medicine*. *Fert Steril*. 61: 1-17. Año 1994.
- 7) Sacks G et col.: *An innate view of human pregnancy*. *Immunology Today*. 20(3): 114-118. Año 1999.
- 8) Davis D et col.: *Non specific Immunity in pregnancy: Monocyte surface Fcγ receptor expression and function*. *J Reprod Immunol*. 40 (2): 119-128. Año 1998.
- 9) Choy MY y col.: *The phagocytic activity of human first trimester extravillous trophoblast*. *Hum Reprod*. 13 (10): Pag 2941-2949. Año 1998.
- 10) Guerra Infante FM y col.: *Phagocytic activity of polymorphonuclear leukocytes of pregnant women*. *Rev Latinoam Microbiol*. 41 (2): 47-51. Año 1999.
- 11) Munno I y col: *Evaluation of non specific immunity and plasma levels of interferon-gamma, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in preclampsia*. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 21(3): 551-564. Año 1999.
- 12) Singer JM, Plotz CM, Parker E and Elster SK. *Am. J. Clin.*

Path. 28:611 (1957).

13) Nilson LA- *Acta Pathol. Microbiol. Scand*. 73:129 (1968).

14) Scheffearth F, Pérez-Miranda M and Goetz- Blut. 20:296 (1970).

15) Mancini G, Carbonara A, Heremans J, *Immunochemical quantification of antigens by single radial immunodiffusion*. *Immunochemistry* 1965, 2: 235

16) *Immunoquímica experimental*, Elvin Kabat y Manfred Mayer-1970- La prensa Médica Mexicana-123-221.

17) Rose N, Conway de Macarro E, Nakamura R. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. American Society for Microbiology. 5ª Edición 1999, pp 252-254.

18) Grzeskowiak L, et Al. *Asthma linked to infertility but not among women taking regular asthma preventers*. *European Respiratory Journal*. 2018 51:1702035;DOI: 1183/13993003.02035-2017

19) Frascoli M, et al., *Science Translational Medicine*, Fetal Immune system rejects the mother in preterm labor. April 2018(18) Gade E, *Journal of Asthma*. Lower values of VEGF in endometrial secretion are possible cause of subfertility in non atopic patients. May 2015;52 (4) 336-342

20) Albieri A et col: *A possible role for activated complement 3 in phagocytic activity exhibited by the mouse trophoblast*. *American J. Reprod Immunol*. 41 (5): 343-52. Año 1999.

21) Gade EJ, Thomsen SF, Lindenberg S, Macklon NS, Backer V. *Lower values of VEGF in endometrial secretion are a possible cause of subfertility in non-atopic asthmatic patients*. *J Asthma*. 2015;52(4):336-342. doi:10.3109/02770903.2014.966915 - DOI - PubMed

