

# Concentraciones séricas de interleucina-2 en el embarazo normal

Drs. Tania Romero Adrián\*, Ana Ruiz\*\*, Rafael Molina Vílchez\*\*\*, Evelyn González\*\*, José Taborda\*\*\*, Jesús Estévez\*\*\*\*

Cátedra de Inmunología de la Universidad del Zulia. Maracaibo, Edo. Zulia.

## RESUMEN

**Objetivo.** Estudiar las concentraciones séricas de interleucina-2 en embarazadas normales.

**Ambiente.** Cátedra de Inmunología de la Escuela de Medicina, Universidad del Zulia.

**Método.** Estudio analítico, prospectivo, de 90 gestantes y un grupo testigo de 30 mujeres no embarazadas.

**Resultados.** Encontramos niveles de interleucina-2 similares al grupo testigo en el primer trimestre, disminución en el segundo e incremento altamente significativo en el tercero.

**Conclusión.** Los valores disminuidos en el segundo trimestre pudieran jugar un papel importante en la sobrevida y desarrollo del aloinjerto fetal. El incremento del tercero, podría estimular la liberación de prostaglandinas para promover cambios conducentes al trabajo de parto, pero se requieren otras investigaciones.

**Palabras clave:** Citoquinas. Embarazo. Interleucina-2.

## SUMMARY

**Objective.** To measure interleukin-2 serum concentrations in normal pregnancy.

**Setting.** Chair of immunology, Zulia University Medical School.

**Method.** Analytic prospective study of 90 pregnant and a 30 nonpregnant women control group.

**Results.** No difference was encountered between the two groups in the first trimester, with lower values for the second and a highly significant rise in the third trimester.

**Conclusion.** Lower second trimester levels may play a role on fetal allograft survival and development. Third trimester rise could influence prostaglandin synthesis in order to promote prelabor changes. Further research is needed.

**Key words:** Cytokines. Pregnancy. Interleukin-2.

## INTRODUCCIÓN

Se piensa que, durante el embarazo, existe una interacción bidireccional entre el sistema inmunitario materno y el sistema reproductivo (1). El primero, puede estimular o inhibir el desarrollo de la unidad fetoplacentaria; y ésta, es capaz de regular las respuestas de la inmunidad materna ante el embarazo (2). Los tejidos útero-placentarios son ricos en tipos

celulares que secretan una gran variedad de citoquinas, y se ha propuesto que, hay una red de estas sustancias en la interfase corio-decidual (3), que puede jugar un papel importante en el desarrollo del embarazo normal. Las citoquinas, a la vez, son agentes relevantes en la fisiopatología de algunas condiciones de morbilidad, como la preeclampsia y el retardo de crecimiento intrauterino (4), entre otras.

Para que no exista rechazo al aloinjerto fetal, se produce una inmunosupresión local, debida a las grandes concentraciones de hormonas placentarias, células deciduales supresoras, factores supresores, citoquinas y otros elementos (2). La hipótesis de Wegmann y col. (1), de que para el mantenimiento del aloinjerto, el sistema inmunitario de la madre responde con predominio de las citoquinas producidas por linfocitos Th2 (T efectoros participantes en la inmunidad humoral), inhibiéndose la serie celular Th1 (participante en la inmunidad celular),

\* Médica Jefe del Posgrado de Inmunología Facultad de Medicina. Universidad del Zulia, Maracaibo.

\*\* Bioanalista. Cursante de la Maestría de Inmunología, Universidad del Zulia.

\*\*\* Médico gineco-obstetra

\*\*\*\* Médico del Instituto de Investigaciones Clínicas. Universidad del Zulia.

Trabajo subvencionado por el CONDES (Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela).

Recibido: 20-10-98

Aceptado para publicación: 28-12-98

es criticada por su rigidez (5) y, en cierta forma, su simplicidad. Pero, es capaz de explicar, en teoría, la aceptación del feto y, a la vez, la respuesta deteriorada contra algunos patógenos intracelulares, como Leishmania, Toxoplasma, Listeria y Plasmodium, así como la mejoría clínica de embarazadas con afecciones autoinmunes mediadas por células (como la artritis reumatoide), contra el empeoramiento de las que tienen patologías (como el lupus eritematoso sistémico) dependientes de la inmunidad humoral (1).

Cada citoquina tiene una función clave en la interfase materno-fetal. La interleucina 2 (IL-2), junto con el interferón gamma (IFN-gamma) y el factor de necrosis tumoral beta (TNF-beta), son productos de células Th1. Teóricamente, es lógico pensar que deben ser inhibidos para que progrese normalmente el embarazo. En el presente trabajo, se miden las concentraciones séricas de IL-2 en embarazadas normales.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron 90 gestantes normales, 30 por cada trimestre de embarazo y un grupo testigo conformado por 30 mujeres normales, no embarazadas, con edades comprendidas entre 15 y 35 años (Cuadro 1). Todas fueron referidas de diferentes centros asistenciales de la ciudad de Maracaibo, tenían ciclos regulares, conocían la fecha de la última menstruación y, la edad de gestación calculada con base a este dato, era compatible con los hallazgos suministrados por el examen clínico y la biometría fetal por ultrasonografía. A cada una se le extrajo 20 ml de sangre venosa, obtenida sin anticoagulante y separando el suero por centrifugación a 1 000 G, durante 10 minutos. Luego, la muestra fue repartida en alícuotas para su almacenamiento a -70° C hasta su procesamiento.

Para medir la IL-2 se utilizó la técnica de inmunoanálisis enzimático (ELISA) de doble anticuerpo (6), basada en la detección en suero con el anticuerpo monoclonal respectivo, previamente absorbido a la superficie de los micropozos de una placa de poliestireno. Un segundo anticuerpo policlonal, conjugado a una enzima (peroxidasa), actúa sobre un sustrato (peróxido de hidrógeno) y provoca la liberación de oxígeno, el cual oxida a un colorante (tetrametilbencidina) integrado al sustrato, determinando la aparición de una coloración. La reacción se mide en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 450 nm,

corregida a 540 nm. La absorbancia resultante de la diferencia entre la primera y la segunda lectura, se lleva a una gráfica construida con base a la absorbancia de los estándares (en el eje de las X) y sus concentraciones (en el eje de las Y). Esta curva estándar fue diseñada para poder determinar los niveles de IL-2, expresados en pg/ml. La sensibilidad del método es menor de 7 pg/ml. No presenta reactividad cruzada o interferencia significativa con otras sustancias. Se usaron equipos "Quantikine Immunoassays", del Laboratorio "R and D Systems".

Los valores obtenidos, se expresaron en cifras absolutas, rangos, media y desviación estándar (M±DE; Cuadro 1), media y error estándar (M±EE, Cuadro 2), y para comparar las medias de los diferentes grupos se empleó la prueba de ANOVA en una dirección, con análisis posterior de Turkey.

Cuadro 1

Características de las mujeres embarazadas normales y sin embarazo

| Características                | Embarazo normal  |                   |                  | Mujeres sin embarazo<br>(n=30) |
|--------------------------------|------------------|-------------------|------------------|--------------------------------|
|                                | Primer<br>(n=30) | Segundo<br>(n=30) | Tercer<br>(n=30) |                                |
| Edad cronológica<br>(años)     |                  |                   |                  |                                |
| M±DE                           | 27,8 ± 2,5       | 25,8 ± 3,6        | 27,5 ± 2,8       | 27,7 ± 3,7                     |
| Rango                          | 22 - 32          | 18 - 31           | 23 - 34          | 20 - 34                        |
| Edad de gestación<br>(semanas) |                  |                   |                  |                                |
| M±DE                           | 8,0 ± 1,7        | 18,7 ± 3,8        | 30,8 ± 3,1       | -                              |
| Rango                          | 5 - 10           | 14 - 26           | 27 - 39          | -                              |

Cuadro 2

Concentraciones séricas de IL-2 en mujeres embarazadas normales y sin embarazo

| Grupos estudiados          | IL-2 (pg/ml)             |
|----------------------------|--------------------------|
| Sin embarazo               | 42,5 ± 1,8 <sup>a*</sup> |
| 1 <sup>er.</sup> trimestre | 42,2 ± 2,0 <sup>b</sup>  |
| 2 <sup>do.</sup> trimestre | 36,9 ± 2,0 <sup>b</sup>  |
| 3 <sup>er.</sup> trimestre | 57,8 ± 1,1               |

\* Las cifras representan la media ± EE de 30 individuos estudiados.

<sup>a</sup> Diferente significativamente de 2<sup>do.</sup> trimestre (p< 0,05) y 3<sup>er.</sup> trimestre (p< 0,001)

<sup>b</sup> Diferente significativamente de 3<sup>er.</sup> trimestre (p< 0,001).

**RESULTADOS**

La media de la concentración sérica de IL-2 en las embarazadas del primer trimestre, fue de  $42,2 \pm 2$ , y  $42,5 \pm 1,8$  la del grupo testigo. En el segundo trimestre se apreció una disminución significativa:  $36,9 \pm 2$  de media, con  $p < 0,05$ ; mientras que en el tercero hubo un incremento:  $57,8 \pm 1,1$ ; significativo, con  $p < 0,001$ . El Cuadro 2 exhibe las concentraciones de IL-2 por trimestre, que se representan gráficamente en la Figura 1.

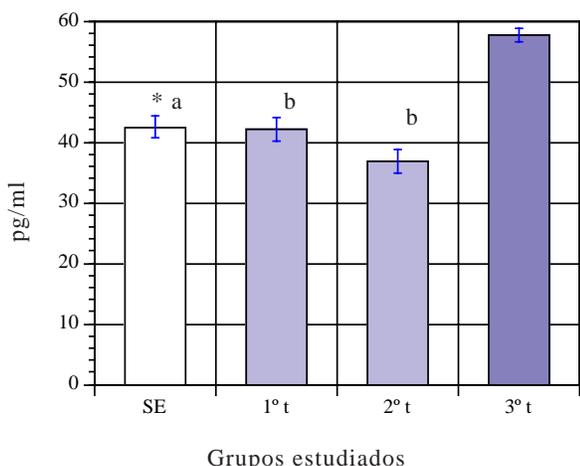


Figura. 1 Concentraciones séricas de IL-2 en mujeres embarazadas normales y sin embarazo. SE: sin embarazo; t: trimestre

\* Las cifras representan la media  $\pm$  EE de 30 individuos estudiados.

<sup>a</sup> Diferente significativamente de 2<sup>do</sup> trimestre ( $p < 0,05$ ) y 3<sup>er</sup> trimestre ( $p < 0,001$ ).

<sup>b</sup> Diferente significativamente del 3<sup>er</sup> trimestre ( $p < 0,001$ ).

**DISCUSIÓN**

Al evaluar los resultados, se aprecia que las embarazadas del primer trimestre tienen niveles similares a las no gestantes, lo que contrasta con las conclusiones de Favier y col. (7), quienes encontraron cifras incrementadas en la gestación normal, con elevación pico en el primer mes; y Marzi y col. (8), que estudiaron sobrenadantes de cultivo de células mononucleares en sangre periférica y, describen una disminución de las IL-2 y el INF- $\gamma$  durante todo

el embarazo, con punto mínimo en el tercer trimestre e incremento de la IL-4 y la IL-10. En general, no hay uniformidad en los reportes publicados sobre valores de IL-2 y su comportamiento al comienzo del embarazo. Los hallazgos de Favier y col. (7) contradicen la hipótesis de que el embarazo es un estado con predominio de células Th2 (1). Los del presente trabajo son, por lo menos, parcialmente compatibles con ella a partir del segundo trimestre, aunque en el primer trimestre, encontramos disminuidas las demás interleucinas estudiadas: IL-4, IFN- $\gamma$  IL-10 y TNF- $\alpha$  (9). Los estudios del receptor soluble de la IL-2 (IL-2Rs) podrían arrojar datos valiosos al actual estado del conocimiento sobre el tema.

La disminución de los niveles del polipéptido en el segundo trimestre, coincide con lo apuntado por González Moreno y col. (2). La IL-2 es estimulante de las células “asesinas naturales” o NK. De modo que, la variación observada, es importante y lógicamente esperable, puesto que uno de los mecanismos conocidos de daño fetal, es la inducción de la actividad de esas células por la IL-2 y el IFN-gamma (1). La activación de las células NK, por inyección de ARN de doble cadena en ratones gestantes, induce la resorción fetal. Al contrario, los tratamientos con anticuerpos anti-NK pueden prevenirla (1). En múridos, la administración de IL-2 produjo abortos. Marzi y col. (8) demostraron que, las mujeres cuyos embarazos terminan en aborto espontáneo, tienen niveles significativamente más altos de IL-2 y más bajos de IL-10, en sobrenadantes de cultivo de células mononucleares de sangre periférica, que aquellas que tuvieron gestación a término.

La producción de IL-2 por la decidua, es deficiente durante el embarazo temprano. Las células T deciduales son incapaces de expresar el receptor de membrana de IL-2, y los inhibidores locales bloquean la unión de la citoquina a su receptor (9). Tal inhibición es protectora del feto en estas etapas de su formación. Yoshimura y col. (10), han sugerido que el líquido amniótico suprime la actividad linfocitaria y, por consiguiente, la secreción de IL-2 por los tejidos.

El incremento altamente significativo en el tercer trimestre, y cercano a la fecha del parto, como puede verse en el Cuadro 1, podría relacionarse con la capacidad que tiene la IL-2 de estimular la síntesis de prostaglandinas PGE2 por las células coriónicas y deciduales (11), no por las amnióticas. De todas formas, se estima que el conocimiento actual sobre

el tema es incompleto y, se necesitan más investigaciones en cuanto al papel de la IL-2 en el metabolismo del ácido araquidónico, con el fin de aclarar su posible influencia en las modificaciones fisiológicas que preceden el parto.

Es difícil comparar nuestros resultados con los de otros investigadores, por los siguientes factores: 1. tamaño de la muestra (algunos de los trabajos anteriores refieren a grupos realmente pequeños); 2. metodología de laboratorio utilizada, que incluye sensibilidad y especificidad de la prueba; 3. edad de gestación y hora del día a la cual se toma la muestra; 4. vida media de las citoquinas estudiadas; 5. tipo de muestra (suero, plasma, líquido amniótico, entre otros); 6. tiempo de almacenamiento del líquido o tejido estudiado; 7. investigación *in vivo* o *in vitro*; 8. modelo experimental en humanos o especies animales; 9. alteraciones por infecciones intrauterinas subclínicas o inadvertidas. La manera como se agrupan la edad de gestación por trimestre, puede modificar los resultados. En el trabajo de Beakmann y col. (12), por ejemplo, estudiamos TNF-alfa, el rango de edad para el "primer trimestre" fue de 7,1 a 17, mientras que en esta investigación fue de 3 a 10, comparable a la de Opsjon cuando estudia TNF e IL-6 (13).

Los resultados presentados en este artículo, a pesar de que nos permiten hipotetizar sobre la participación de la IL-2 en el rechazo o la tolerancia al aloinjerto fetal, revelan sólo una visión parcial de lo que ocurre en un sistema tan ampliamente distribuido e interrelacionado en el organismo como el inmunitario. Quedan siempre muchas interrogantes abiertas, puesto que lo ideal sería estudiar todas las citoquinas que participan en la fisiología del embarazo, las relaciones entre ellas y las que tienen con otros elementos propios del embarazo, como hormonas. Rock (14) aclara que, los experimentos *in vivo* no resuelven totalmente los problemas de determinación de las acciones de citoquinas polifuncionales, reforzando el valor de las investigaciones *in vitro* con tejidos o humores aislados, o *in vivo*, pero con estudios longitudinales. Con este artículo sobre IL-2, se abre un camino amplio de posibilidades, no sólo con el embarazo mismo, sino con muchas patologías asociadas.

## REFERENCIAS

1. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mossmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: Is successful pregnancy a Th2 phenomenon? *Immunol Today* 1993;14(7):353-356.
2. González Moreno J, Hernández Mora FJ, Vargas Rodríguez R, Plascencia Hernández A, Guzmán Sánchez A. Interleukinas y embarazo: una realidad cuestionada. *Ginecol Obstet Méx* 1994;62:27-30.
3. Mitchell MD, Trautman MS, Dudley DJ. Cytokine networking in the placenta. *Placenta* 1993;14:249-275.
4. Denise Raynor B. Cytokines. *Adv Obstet Gynecol* 1996;3:27-46.
5. Vince GS, Johnson PM. Is there a Th2 bias in human pregnancy? *J Reprod Immunol* 1996;32:101-104.
6. Jokhi PP, King A, Loke YW. Cytokine production and cytokine receptor expression by cells of the human first trimester placental-uterine interfase. *Cytokine* 1997;9(2):126-137.
7. Favier R, Edelman P, Mary JY, Sadoul G, Douay L. Presence of elevated serum interleukin-2 levels in pregnant women. *N Engl J Med* 1990;322:270-275.
8. Marzi M, Vigano D, Trabattoni D, Villa ML, Salvaggio A, Clereci E, et al. Characterization of type 1 and type 2 cytokine production profile in physiologic and pathologic human pregnancy. *Clin Exp Immunol* 1996;127:133.
9. Bulmer JN, Johnson PM. The T-lymphocyte population in first trimester human decidua does not express the interleukin-2 receptor. *Immunology* 1986;58:685-687.
10. Yoshimura N, Matsui S, Hamashima T, Lee CJ, Ohsaka Y, Hirakawa K, et al. Mechanisms of immunosuppressive action of the amniotic fluid on lymphocyte activation. *Transplant Proc* 1991;23:185-186.
11. Coulam CH, Edwin SS, Lamarche S, Mitchell MD. Action of interleukin-2 on chorio-decidual prostaglandin biosynthesis. *Prostaglandins* 1993;46:145-156.
12. Beackmann I, Visser W, Struijk PC, Van Dooren M, Glavimans J, Wallenburg HCS. Circulating bioactive tumor necrosis factor- $\alpha$  receptors, fibronectin, and tumor necrosis factor- $\alpha$  inducible cell adhesion molecule VCAM-1 in uncomplicated pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:1247-1252.
13. Opsjon SL, Novick D, Wathen NC, Cope AP, Wallach D, Aderka D. Soluble tumor necrosis factor receptors and soluble interleukin-6 receptor in fetal and maternal sera, coelomic and amniotic fluids in normal and pre-eclamptic pregnancies. *J Reprod Immunol* 1995;29:119-134.
14. Rock G. Reacciones inmunitarias mediadas por células. En: Roitt I, Brostoff J, Male D, editores. *Immunología*. 4ª edición. Madrid: Harcourt-Bracellit; 1997.p.9.1-9.15.