

Interleucina 4 en el suero de embarazadas normales y preeclámpticas

Drs. Rafael Molina Vilchez, Tania Romero Adrián, Ana Ruiz, Wintila Heredia, Ricardo Atencio, José L Tabora

Hospital "Manuel Noriega Trigo". Cátedra de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia

RESUMEN

Objetivo: Medir las concentraciones de interleucina-4 en suero de embarazadas normales y preeclámpticas.

Ambiente: Cátedra de Inmunología. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia.

Método: Estudio prospectivo de 90 gestantes normales (30 en cada trimestre), 30 pacientes con preeclampsia y un grupo control de 30 no gestantes. La citocina se midió por inmunoanálisis enzimático de doble anticuerpo.

Resultados: Niveles disminuidos en primer trimestre con respecto al control e incrementados en segundo y tercero. No hubo diferencia significativa entre preeclampsia y tercer trimestre normal.

Conclusiones: El ascenso de la citocina en el transcurso del embarazo, parece lógico para un producto Th2, protector del desarrollo normal del embarazo. Se necesitan más investigaciones para evaluar la influencia en preeclampsia

Palabras clave: Citocinas. Embarazo. Interleucina-4. Preeclampsia.

SUMMARY

Objective: To measure Interleukin-4 serum concentration in preeclampsia and normal pregnancy.

Setting: Chair of Immunology. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia.

Method: Prospective study of 90 uncomplicated pregnant women (30 for each trimester), 30 with preeclampsia and a control group of 30 healthy non pregnant. The cytokine was quantified by a double antibody enzymatic immunoanalysis.

Results: Significant fall in the first trimester, with progressive rise in second and third. No difference was found between preeclampsia and the third trimester group.

Conclusions: The cytokine serum concentration increases with the evolution of pregnancy, which seems logical for a Th2 product supposed to have protective effects for gestation. Further investigations are needed in order to evaluate its relationship with preeclampsia.

Key words: Cytokines. Pregnancy. Interleukin-4 Preeclampsia.

INTRODUCCIÓN

A la interleucina-4 (IL-4,) se le conoció primeramente como factor 1 de crecimiento de las células B, o BCGF-1, por su acción estimulante de la proliferación de este grupo celular. Induce la expresión de antígenos clase II del complejo mayor de histocompatibilidad -MHC- en las células B,

monocitos y macrófagos, y promueve la síntesis de inmunoglobulina E (1). Es una glicoproteína secretada por los linfocitos CD4 Th2, las células cebadas y algunas CD8, a la que se atribuye un papel importante en la alergia, la terapia de la auto-inmunidad mediada por células T y la enfermedad del injerto contra el organismo hospedero. Tiene efecto antitumoral, es inhibidora de la liberación de citocinas proinflamatorias por los monocitos activados y moduladora en positivo de los linfocitos CD8 citotóxicos (2).

Trabajo subvencionado por el Condes, Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, de la Universidad del Zulia.

Recibido: 09-11-99

Aceptado para publicación: 01-04-00

Se afirma que en el embarazo normal hay un predominio de las citocinas Th2 sobre las Th1, a fin de crear cierto grado de inmunosupresión celular, que permita el desarrollo feto-placentario (3-5). De las citocinas detectadas en la placenta, la IL-4 es la principal (6,7), y junto con la IL-5, la IL-10 y el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos —GM-CSF—, es beneficiosa para el crecimiento placentario (8,9), lo que apoya la importancia de los productos Th2 en los mecanismos de protección de la viabilidad del embarazo contra la acción de los productos proinflamatorios Th1. Omu y col. (7) plantean que la IL-4 puede ser necesaria para la primera y segunda onda de invasión trofoblástica, lo que hace pensar automáticamente en preeclampsia (PE) condición en la que la segunda se lleva a cabo en forma insuficiente (10).

Estudiar los posibles cambios en la producción y cinética de la IL-4 en PE, luce, por tanto, atractivo. A otras citocinas se han dedicado numerosas investigaciones (11,12) mientras que las referencias sobre la que ahora nos ocupa son escasas.

MATERIAL Y MÉTODO

Se investigaron 90 embarazadas normales, 30 de cada trimestre, 30 con PE y 30 mujeres normales no gestantes (grupo control), referidas de diversos centros obstétricos de la región de Maracaibo. Las gestantes no complicadas y las componentes del grupo testigo eran eumenorreicas, recordaban con certeza la fecha de la última menstruación, y la biometría fetal evaluada con ultrasonidos, señalaba compatibilidad con la edad de gestación cronológica. Algunas características de la muestra de embarazo normal y testigo, pueden verse en publicación anterior (13).

Se clasificaron como PE pacientes con tensión arterial igual o mayor al 140/90 mmHg, en dos tomas separadas por a menos cuatro horas, que habían permanecido normotensas hasta la vigésima semana de la gestación actual, con edema y proteinuria de una cruz o más, o sobre 300 mg en orina de 24 horas (14). El grupo PE estuvo formado por mujeres con edad cronológica entre 15 y 35 años, media de $22,1 \pm 1,2$; y edad de gestación de $37,0 \pm 0,5$ semanas, con extremos en 30 y 40. En ninguno de los grupos se incluyeron pacientes en trabajo de parto.

A todas se les extrajeron 20 cm³ de sangre venosa, en ayunas, alrededor de las nueve de la mañana, y las

muestras se procesaron según técnicas anteriormente publicadas (13). La IL-4 se midió siguiendo un método de inmunoanálisis enzimático (Elisa) de doble anticuerpo, empleando reactivos de “*Quantikine Immunoassay*”, de “*R y D Systems*” (lotes 9723042 y 43). La sensibilidad del método para IL-4 es menor de 4,1 pg/ml, y no presenta reactividad cruzada o interferencia significativa con otras sustancias, inclusive otras citocinas.

Los resultados, en pg/ml, se expresan como datos absolutos, media y error estándar, siguiendo la prueba de ANOVA en una dirección, con “*post-test*” de Turkey, tomando el 95% como índice de confiabilidad estadística.

RESULTADOS

Las mujeres no gestantes (grupo control) tuvieron concentraciones de IL-4 en $5,2 \pm 0,2$ pg/ml. En las embarazadas se obtuvieron los siguientes resultados: para el primer trimestre $1,3 \pm 0,1$ pg/ml; para el segundo $3,9 \pm 0,3$ pg/ml; y para el tercero $4,7 \pm 0,2$ pg/ml. Hubo diferencia significativa entre el control y cada uno de los dos primeros trimestres, y entre el primero y segundo trimestre, en ambos casos con la misma $p < 0,001$. La diferencia entre el segundo y tercer trimestre fue menos amplia, con $p < 0,05$. En las preeclámpticas hubo una media de $4,4 \pm 0,4$ pg/ml, lo que no representa cambios estadísticamente válidos, ni con el control, ni con el tercer trimestre. Estas cifras se expresan gráficamente en la Figura 1.

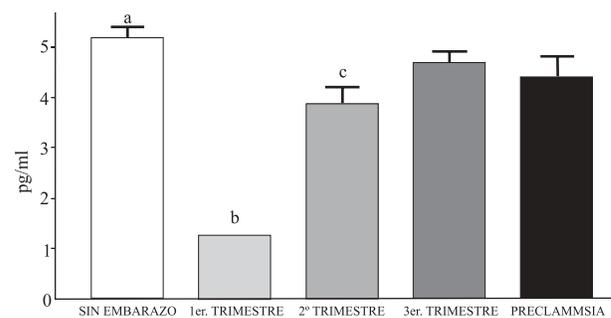


Figura 1. Concentración sérica de IL-4. *Las cifras representan la media \pm error estándar. ^aDiferente significativamente del 1^{er} y 2^{do} trimestre ($p < 0,001$). ^bDiferente significativamente del 2^{do} y 3^{er} trimestre ($p < 0,001$). ^cDiferente significativamente del 3^{er} trimestre ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

Lo primero que llama la atención con estos resultados, es el significativo descenso de IL-4 observado en las embarazadas normales del primer trimestre. Teniendo en cuenta que a esta sustancia se le atribuye un importante efecto protector para el embarazo, era de esperarse un aumento. Comparar estos hallazgos con los de otros autores es muy discutible. Los trabajos que conocemos sobre IL-4 no incluyeron muestras con menos de 12 semanas (7,8), mientras que aquí se presentan como primer trimestre las obtenidas entre 5 y 10. Omu y col. (7) encontraron en el material de 12 semanas, una concentración sérica media de 9,0 pg/ml, usando inmunoanálisis enzimático (con reactivos de "Bio-source International Company"), muy superior a la del estudio presente, y esta disparidad se mantiene en los resultados de 24 y 36 semanas, que llegan a medias de 39,0 y 50,2 pg/ml, respectivamente. La media obtenida a las 12 semanas lleva a estos autores a afirmar que, al comienzo del embarazo en mujeres no hipertensas, y que en el futuro no sufren de PE, el nivel de IL-4 asciende en el suero. Los resultados de Gratacós y col. (8), usando otra técnica tipo ELISA, se acercan más a los aquí presentados en cuanto a edad de gestación y concentración de la citocina, con las primeras muestras tomadas a las 13 semanas y también distan de los de Omu y col. (7).

Para el descenso de la IL-4 en el suero de embarazadas normales en las primeras semanas, es posible teorizar según varias explicaciones: 1°. esta sustancia, de acciones más auto y paracrinas que endocrinas, estaría concentrada en los tejidos intrauterinos, a objeto de inhibir los efectos de las citocinas Th1. 2°. los resultados de nuestro laboratorio señalan que, en el primer trimestre, caen las concentraciones circulantes de otras citocinas: IL-10, TNF- α e INF- γ , lo mismo que el receptor soluble de la IL-2, a consecuencia de un estado de hipoactividad celular que tiende a mantener la interfase materno-fetal como un sitio de "privilegio inmunológico" (15). 3°. una de las funciones más notorias de la IL-4 es la estimulación de la expresión de la clase II de los antígenos leucocitarios humanos, o HLA, lo que facilitaría, en caso de aumento, el reconocimiento de una mayor cantidad de péptidos antigénicos, con desviación del fenotipo celular Th0 al Th1, y la consecuente secreción de citocinas de este último. En tal sentido, que no se incrementen más allá de cierto nivel crítico las concentraciones de IL-4, resulta un punto clave para la normalidad.

La IL-4 tiene acciones sobre la fisiología del embarazo aparentemente paradójicas, como la inhibición de la sintetasa de óxido nítrico, las que, contrapuestas a las positivas, no logran desviar su balance de agente protector de la evolución de la gestación.

El ascenso significativo de la IL-4 en el segundo y tercer trimestre del embarazo no complicado es digno de análisis. Se postula que esta citocina y el TNF- α se modulan de manera recíproca, y que, del equilibrio entre ambos, depende el curso del embarazo (3). El TNF- α aumenta en el suero durante el segundo trimestre, llegando a niveles semejantes a los del grupo testigo no gestante. Los incrementos de ambas citocinas coinciden en este período, pero en el tercer trimestre disminuye el TNF- α (16), así como la IL-10 (17), producto Th2 que también se regula en forma bidireccional con la IL-4. Algunos experimentos animales apoyan la idea de que la relación de la IL-4 con las citocinas Th1 varía con el progreso del embarazo. El sobrenadante de células deciduales murinas, para el día 6 del embarazo, tiene un cociente IL-4/INF- γ de 6/1, lo que cambia a 600/1 para el día 12 (18).

Los resultados del grupo PE también se comparan de modo diferente con las referencias citadas. En unas se encuentra, como en la investigación actual, valores similares con los grupos controles, tanto de IL-4 como de IL-10 (8). En otras se señalan que la IL-4 asciende progresivamente en las muestras de 12, 24 y 36 semanas, con un ascenso más o menos paralelo, y en concentraciones mayores, en las PE (7). Para los autores de las últimas, la diferencia entre PE y grupo testigo es significativa, y sigue siéndolo al inicio del trabajo de parto, durante éste y una hora después. Llamamos la atención sobre la coincidencia entre los incrementos de IL-4 y de progesterona. En cuanto a la relación TNF- α /IL-4, reportan que a las 12 semanas es superior en el grupo control, pero a las 24 y 36 se hace más alta en PE, mientras que al inicio del trabajo de parto, no hubo diferencias.

En el balance TNF- α /IL-4 hay hechos que despiertan la curiosidad, y que hablan del complejo funcionalismo de las citocinas. La IL-4 inhibe algunos de los efectos nocivos de la caquectina, pero en cuanto a la producción de óxido nítrico, el TNF- α actúa como estimulante de la sintetasa independiente de calcio, o iNOS, mientras que la IL-4 es inhibidora. En tal sentido, la IL-4 tiende a facilitar los mecanismos de disfunción endotelial y, por tanto, de la PE. Se interpreta que los niveles

altos de IL-4 encontrados en PE, representan una respuesta anti-TNF- α (7). Hay un interesante mecanismo de interregulación, entre el TNF- α y los productos Th2: IL-4 e IL-10. Estos dos últimos tienen efectos duales sobre la evolución del embarazo. La interacción es muy dinámica y particularmente difícil de explicar en esta condición, por la multiplicidad de factores metabólicos y endocrinos. Omu y col. (7) hablan de un rol dicotómico de la IL-4. La gestación normal, en normotensas, según ellos, se acompaña de niveles elevados de la citocina en la primera mitad; mientras que en la segunda y el puerperio, la elevación se asocia a PE.

Los resultados del trabajo que presentamos coinciden con los de Omu y col. (7) en cuanto al ascenso progresivo de las concentraciones de IL-4 durante el embarazo normal, pero no en las cifras superiores señaladas por ellos en el grupo PE. Nuestro estudio se hizo con pacientes clínicamente preeclámplicas, obteniendo una sola muestra en edades de gestación comprendidas entre 30 y 40 semanas. Vale la pena diseñar nuevas investigaciones, de tipo longitudinal. La diferencia entre PE y control en la fase clínica, o en el tercer trimestre, puede variar según el estado del balance de la IL-4 con el TNF- α , sus receptores solubles, el IFN- γ y la IL-10. El IFN- γ también inhibe la IL-4. De un estrecho margen de relación funcional entre esas sustancias, depende la evolución normal o patológica del embarazo.

REFERENCIAS

- O'Garra A. Interleukins and the immune system. *Lancet* 1989;1:943-947.
- Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. Citocinas. En: Stites DP, Terr AI, Parslow TG, editores. *Inmunologías básica y clínica*. 8ª edición. México: Manual Moderno 1996.p.133-155.
- Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokines interactions in the maternal-fetal relationship: Is successful pregnancy a Th2 phenomenon? *Immunol Today* 1993;14:353-356.
- Dekker GA, Sibai BM. Biology and pathogenesis of preeclampsia: Current concepts. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:1359-1375.
- Dekker GA, Sibai BM. Immunobiology of preeclampsia. *Sem Perinatol* 1999;23(1):24-33.
- Delassus S, Coutinho GC, Saucier C, Darche S, Kourrilsky P. Differential cytokine expression in maternal blood and plasma during murine gestation. *J Immunol* 1993;152:2411-2420.
- Omu AE, Al-Qattan F, Diejomach ME, Al-Yatama M. Differential levels of T helper cytokines in preeclampsia: Pregnancy, labor and puerperium. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999;78:675-680.
- Gratacós E, Filella X, Palacio M, Cararach V, Alonso PL, Fortuny A. Interleukin-4, Interleukin-10, and Granulocyte-Macrophage colony stimulating factor in second trimester serum from women with preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1998;92:849-853.
- Raghupathy R, Tangri S. Immunodystrophism, T cells, cytokines and pregnancy failure. *Am J Reprod Immunol* 1996;35:291-296.
- Pijnenborg R, Dixon G, Robertson WB, Brosens I. Trophoblastic invasion of human decidua from 8 to 18 weeks of pregnancy. *Placenta* 1980;1:3-19.
- Sattar N, Gaw A, Packard CJ, Greer IA. Potential pathogenic roles of aberrant lipoprotein and fatty acid metabolism in pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1996;103:614-620.
- Molina Vílchez R, Romero Adrián T, Ruiz A. Citocinas en la fisiopatología de la preeclampsia. *Gac Méd Caracas*. 1999;107:505-516.
- Romero Adrián T, Ruiz A, Molina Vílchez R, González E, Tabora J, Estévez J. Concentraciones séricas de interleucina-2 en el embarazo normal. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1999;59(1):3-6.
- Zuspan FP. The hypertensive disorders of pregnancy. Report of a World Health Organization Study Group. Technical report series 758. Geneva: World Health Organization, 1987.
- Janeway C, Travers P. *Immunobiology*. 2ª edición. Nueva York: Current Biology Limited & Garland Pub Inc Edit 1996.
- Molina Vílchez R, Adrián T, Ruiz A, González E, Estévez J, Atencio R. Concentraciones séricas de factor de necrosis tumoral alfa en el embarazo normal. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1999;59(3):167-171.
- Romero Adrián T, Ruiz A, Molina Vílchez R, González E, Tabora J, Estévez J. Concentraciones séricas de interleucina-10 en embarazadas normales. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1999;59(3):177-179.
- Lin H, Mosmann TR, Guilbert L, Tuntipopinat S, Wegmann TG. Synthesis of T Helper 2-Type Cytokines at the maternal-fetal interface. *J Immunol* 1993;151:4562-4574.
- Barnes PJ, Liew FY. Nitric oxide and asthmatic inflammation. *Immunol Today* 1993;16:128-130.