Esta Tesis Doctoral ha sido realizada con cargo a un proyecto de investigación de la Comisión - Asesora Científica y Técnica de la Junta de Andalucía (nº 9/17).

Fdo: Enrique García Olivares.

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA

Y BIOLOGIA MOLECULAR

" ESTUDIO DE LA INMUNIDAD DURANTE EL EMBARAZO Y PUERPERIO "

TESIS DOCTORAL

JOSE ANTONIO CASTILLA ALCALA

Granada, 1986

D. ENRIQUE GARCIA OLIVARES, PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA

CERTIFICA:

Que D. JOSE ANTONIO CASTILLA ALCALA ha realizado bajo mi dirección su trabajo de Tesis Doctoral - sobre el tema " ESTUDIO DE LA INMUNIDAD DURANTE EL EMBARAZO Y PUERPERIO ", que ha finalizado con todo aprovechamiento, habiendo sido revisada la presente y estando conforme con su presentación para obtener el grado de Doctor, siempre que así lo considere el tribunal que designe la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

Granada, 30 de Junio de 1986

Fdo: Enrique García Olivares

D. FRANCISCO GONZALEZ GOMEZ, CATEDRATICO DEL DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA

CERTIFICA:

Que D. JOSE ANTONIO CASTILLA ALCALA ha realizado bajo mi dirección su trabajo de Tesis Doctoral - sobre el tema " ESTUDIO DE LA INMUNIDAD DURANTE - EL EMBARAZO Y PUERPERIO ", que ha finalizado con todo aprovechamiento, habiendo sido revisada la - presente y estando conforme con su presentación - para obtener el grado de Doctor, siempre que así lo considere el tribunal que designe la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

Granada, 30 de Junio de 1968

Fdo: Francisco González Gómez

Quiero agradecer a D. Enrique García Olivares su ayuda y comprensión en los momentos difíciles, y sobre todo la confianza que ha depositado en mi.

A D. Francisco González Gómez su orientación y consejos, y el interés puesto en el presente trabajo.

A D. Antonio Martín Andrés sus consejos en la parte estadística de esta tesis.

A Carlos Muñoz y Emilio Doblaré su ayuda en el -- montaje de las diversas técnicas de este trabajo.

A Pilar Bermúdez por su inapreciable ayuda que ha sido decisiva para la realización de esta tesis.

A Enrique López-Tello, Enrique Buendía y Antonio - Lallena por su colaboración en la parte estadística, y - en especial a Antonio por enseñarme lo que era el orden.

A Eduardo Martínez por su ayuda en la parte gráfica y por los buenos momentos que hemos pasado y pasaremos juntos.

A la Sección de Inmunología del departamento de - Fisiología y Bioquímica por toda la colaboración prestada, que ha sido mucha.

Y a todos aquellos que con su apoyo han hecho posible este trabajo.

Ni en el llegar, ni en el hallazgo
tiene el amor su cima:
es en la resistencia a separarse
en donde se le siente,
desnudo, altísimo, temblando.

PEDRO SALINAS.

A PILAR por todo.

" El ser no nace, se forja "

SOCRATES.

A MIS PADRES

A MIS HERMANOS

INDICE

INTRODUCCION Pág

I. ANTECEDENTES..... 2

II. ESTUDIO INMUNOLOGICO MATERNO..... 4

II.1. RESPUESTA DE LA MUJER AL SEMEN..... 4

II.1.1. ANTIGENOS DEL ESPERMATOZOIDE... 4

II.1.2. ANTIGENOS DEL LIQUIDOSEMINAL... 6

II.1.3. RESPUESTA HUMORAL AL ESPERMA... 7

II.1.4. RESPUESTA CELULAR AL ESPERMA... 8

II.1.5. PROPIEDADES INMUNOREGULADORAS DEL PLASMA SEMINAL..... 9

II.2. INMUNOCOMPETENCIA GENERAL MATERNA..... 10

II.2.1. RESPUESTA INMUNE HUMORAL MATERNA..... 16

II.2.2. ELEMENTOS CELULARES DE LA RESPUESTA INMUNE MATERNA..... 20

II.3. ESTUDIO INMUNOLOGICO DE LA DECIDUA..... 29

II.4. PASO DE ANTIGENOS FETALES A LA CIRCULACION MATERNA..... 33

III. ESTUDIO INMUNOLOGICO GENERAL DEL FETO..... 35

III.1. DESARROLLO DE LA INMUNOCOMPETENCIA FETAL 36

III.2. RESPUESTA FETAL A LOS ANTIGENOS MATERNOS 38

III.3. ESTUDIO DE LA PLACENTA..... 46

IV. SIMILITUD ENTRE EMBARAZO Y TRASPLANTE..... 51

V. SIMILITUD ENTRE EMBARAZO Y TUMORES..... 54

VI. MECANISMOS PROPUESTOS PARA EVITAR EL RECHAZO... 56

VI.1. MECANISMOS RELACIONADOS CON EL FETO..... 56

Pág

VI.1.1. NO ANTIGENICIDAD Y/O INMUNOGENICIDAD DEL EMBRION..... 56

VI.1.2. NO ANTIGENICIDAD Y/O INMUNOGENICIDAD DEL AMNIOCORION..... 58

VI.1.3. ANTIGENICIDAD Y/O INMUNOGENICIDAD DE LA PLACENTA..... 60

VI.2. MECANISMOS RELACIONADOS CON LA MADRE..... 64

VI.2.1. LOCAL: UTERO COMO LUGAR INMUNOLOGICAMENTE PRIVILEGIADO..... 64

VI.2.2. SISTEMICO..... 67

VI.2.2.1. CAMBIOS EN LAS POBLACIONES CELULARES INMUNES..... 67

VI.2.2.2. INMUNOSUPRESION..... 71

VI.2.2.2.1. INESPECIFICA.. 72

VI.2.2.2.1.1. ESTEROIDES.. 72

VI.2.2.2.1.2. -2 GLICOPROTEINA ASOCIADA AL EMBARAZO.... 82

VI.2.2.2.1.3. FETOPROTEINA..... 84

VI.2.2.2.1.4. -1 GLICOPROTEINA ESPECIFICA DE EMBARAZO.... 88

VI.2.2.2.1.5. FACTOR PRE-

Pág

COZ DEL EMBARAZO.. 89

VI.2.2.2.1.6. LACTOGENO PLACENTARIO HUMANO..... 90

VI.2.2.2.1.7. GODANOTROFINA CORIONICA HUMANA.... 91

VI.2.2.2.1.8. PROTEINA A PLASMATICA ASOCIADA AL EMBARAZO..... 93

VI.2.2.2.1.9. PROTEINA PLACENTARIA 15..... 94

VI.2.2.2.1.10. INHIBIDOR DE LA SINTESIS DE PROSTAGLANDINAS ASOCIADO AL EMBARAZO..... 95

VI.2.2.2.1.11. ANTIGENOS TROFOBLASTICOS DE TIPO 1.... 96

VI.2.2.2.1.12. CELULAS SUPRESORAS INESPECIFICAS..... 96

VI.2.2.2.2. ESPECIFICA..... 98

VI.2.2.2.2.1. ANTICUERPOS BLOQUEANTES..... 98

VI.2.2.2.2.2. CELULAS SUPRESORAS ESPECIFICAS..... 104

VI.3. DEPENDIENTES DE LA INTERFASE MATERNO-FETAL..... 107

VI.3.1. TEORIA DEL FIBRIMOIDE..... 107

Pág

VI.3.2. ANTICUERPOS BLOQUEANTES..... 108

VI.3.3. INMUNOABSORCION DE ANTICUERPOS CITOTOXICOS..... 111

VI.3.4. BLOQUEO DE AFERENTES LINFATICOS.. 113

VI.3.5. PRESENTACION INEFECTIVA DE ANTIGENOS POR EL TROFOBLASTO..... 115

VI.3.6. INMUNOREGULACION LOCAL..... 116

VI.3.6.1. CELULAS DE LA INTERFASE 116

VI.3.6.1.1. CELULAS DECIDUALES... 116

VI.3.6.1.2. CELULAS LINFOIDEAS DECIDUALES..... 118

VI.3.6.1.3. LEUCOCITOS DECIDUALES 120

VI.3.6.1.4. CELULAS TROFOBLASTICAS..... 121

VI.3.6.1.5. LEUCOCITOS TROFOBLASTICOS..... 122

VI.3.6.2. FACTORES INMUNOREGULADORES DE LA INTERFASE.. 124

VI.3.6.2.1. CICLOSPORINA NATURAL DE LA MADRE..... 124

VI.3.6.2.2. FACTORES TROFOBLASTICOS..... 125

VI.3.6.2.3. PROGESTERONA..... 127

VI.3.6.2.4. FACTORES INMUNODESVIADORES..... 132

VI.3.6.2.5. OTROS FACTORES..... 134

Pág

OBJETIVOS 138

MATERIAL Y METODOS 140

I. INSTRUMENTOS Y APARATOS..... 141

II. REACTIVOS..... 142

III. POBLACION..... 146

IV. AISLAMIENTO DE CELULAS MONONUCLEADAS..... 147

V. DETERMINACION DE POBLACIONES CELULARES MEDIANTE UN ESTUDIO DE CITOTOXICIDAD DEPENDIENTE DE COMPLEMENTO CON ANTICUERPOS MONOCLONALES..... 149

VI. TEST DE TRANSFORMACION LINFOBLASTICA..... 150

VII. TEST DE SUPRESION..... 151

VIII. EXPRESION DE LOS RESULTADOS..... 153

IX. METODOS ESTADISTICOS..... 153

IX.1. CALCULO DE LOS VALORES MEDIOS Y SU DESVIACION ESTANDAR..... 153

IX.2. ANALISIS DE LA VARIANZA DE UNA VIA..... 154

IX.3. ANALISIS DE LA VARIANZA DE DOS VIAS CON VARIOS ELEMENTOS POR CASILLA..... 156

RESULTADOS 158

DISCUSION 302

CONCLUSIONES 337

BIBLIOGRAFIA 340

INTRODUCCION

I.- ANTECEDENTES

Durante un embarazo vivíparo el feto, puede ser considerado un injerto semialogénico, en el aparato reproductor materno, debido a que presenta un conjunto de antígenos paternos, extraños a la madre. El concepto sobrevivirá el periodo de gestación intrauterino, a pesar de que la madre rechace tejidos fetales o paternos trasplantados en otros sitios.

El feto en potencia, también es capaz de reaccionar frente a la madre, debido a que dispone de un sistema inmune perfectamente diferenciado, antes del alumbramiento en muchas especies.

Las principales teorías que intentaban explicar la tolerancia inmune materna frente al feto, se basaban, hasta la década de los 70, en afirmar o negar la existencia de una respuesta inmune en la madre. MEDAWAR, en 1953 intentó explicar la supervivencia del feto a pesar de ser un injerto semialogénico, mediante las siguientes hipótesis:

a) El concepto no es inmunogénico, por lo que no provoca una respuesta inmune materna.

b) El útero sería un lugar inmunológicamente privelegiado.

c) La placenta se comporta como una barrera inmunológica.

d) El embarazo alteraría la respuesta inmune materna.

e) El feto no sería inmunológicamente competente.

Algunas de estas hipótesis no han resistido el paso del tiempo, otras, aún siguen en pie y son objeto de investigación.

Por otra parte, en 1966, CLARKE y KIRBY postularon la teoría que presentaba el embarazo como un estado de inmunoestimulación, es decir, suponían a la unidad placentofetal capaz de estimular el sistema inmune materno, provocando una respuesta necesaria para el normal desarrollo de la gestación.

A partir de los años 70, y con la publicación de los trabajos de VOISIN G.A. (1971), se intenta fusionar las dos teorías anteriores suponiendo que la tolerancia materna frente al embarazo semialogénico podría depender de la regulación activa del sistema inmune materno, bajo la influencia de sustancias fetoplacentarias, es decir, en el embarazo se produciría una respuesta inmune que estaría enfocada a defender al feto de los posibles mecanismos de rechazo, denominándose esta respuesta "reacción de facilitación".

Antes de analizar detalladamente los mecanismos - que impiden el rechazo, vamos a estudiar en líneas generales el estado inmune materno y fetal.

También comentaremos las similitudes existentes - entre el embarazo, trasplante de órganos y determinados tumores, con la intención de ver, cómo el estudio de la inmunología de la reproducción sobrepasa los límites -- propiamente obstétricos y ginecológicos.

II.- ESTUDIO INMUNOLOGICO MATERNO

II.1. RESPUESTA DE LA MUJER AL SEMEN

Tanto los espermatozoides como el líquido seminal van a portar diversos antígenos que provocarán una respuesta inmune materna humoral y celular, dicha respuesta quizá sea regulada por las propiedades inmunológicas del líquido seminal.

II.1.1. ANTIGENOS DEL ESPERMATOZOIDE

La enzima láctico deshidrogenasa X (LDH-X ó LDH-C_4) fue descubierta en el estudio electroforético de extractos de espermatozoides y testículo humano (GOLDBERG, 1963).

Mediante inmonufluorescencia se observó que dicha enzima no se presentaba ni en los elementos no germinales del testículo, células intersticiales y células de Sertoli, ni en gonocitos, espermatogonias y espermatocitos primarios en preleptotene o leptotene. La LDH-X se detecta por primera vez en la etapa de paquitene (WHEAT y col., 1977). La LDH-C_4 no se encuentra en testículos prepuberales o en otros tejidos del hombre y está totalmente ausente en la mujer (LERUM y GOLDBERG, 1974), por lo que la LDH-X es antigénicatanto en el hombre como en la mujer.

Existen otras enzimas específicas del espermatozoide, como por ejemplo la enolasa S (ENO S) (EVREV, -- 1985).

Los antígenos de los grupos sanguíneos ABO son - expresados solamente por espermatozoides eyaculados, - sugiriendo esto que son adquiridos a partir del plasma seminal (ERICKSON, 1977), con los antígenos Rh, MNS y P ocurre igual que con los antígenos ABO (JONES, 1980).

La presencia de antígenos HLA en los espermatozoides es actualmente discutida, pues si bien se pensaba - desde hace años que sí existían en su superficie (FE-- LLOUS y DAUSSETT, 1970), recientes estudios con anti-- cuerpos monoclonales frente a los antígenos HLA-A,B,C y

D han fracasado a la hora de encontrar antígenos HLA - en esperma epididímico o eyaculado (ANDERSON y col., - 1982).

El antígeno H-Y presente en todos los tejidos y quizás en todas las células nucleadas del hombre, ex-- cepto en células germinales premeióticas, se encuentra también en espermatozoides (GOLDBERG y col, 1983). En - mujeres normales dicho antígeno no se ha identificado - por lo que al entrar en contacto con el sistema inmune materno provocará una respuesta.

Varios autores (POULSEN,1982; NAABY-HANSEN y -- BJERRUM, 1985) han determinado diversos autoantígenos en la superficie del espermatozoide que estarían relacionados con las reacciones de aglutinación.

Recientemente se ha comprobado que los esperma-- tozoides presentan determinantes antígenicos de membra na comunes con linfocitos T supresores/citotóxicos ($T8^+$) y no con linfocitos T helper/inducer ($T4^+$), (WITKIN y - YU 1985)

II.1.2. ANTIGENOS EN LIQUIDO SEMINAL

El líquido seminal contiene una gran variedad de

sustancias con capacidad antigénica, principalmente enzimas. Las inmunoglobulinas existentes en el líquido - seminal se encuentran a concentraciones mucho más ba-- jas que en suero (IgG:7-13 mg/dl, IgA: 2-6 mg/dl). Ig M no se detecta normalmente.

Se han detectado antígenos en líquido seminal que presentan reacción cruzada con antígenos trofoblásticos, (TA2), lo que permite en cierto modo la exposicion materna a dichos antígenos semanas antes de la implantación del blastocito (FAULK y MCINTYRE, 1983). Posteriormente volveremos a hablar de estos antígenos trofoblásticos.

II.1.3. RESPUESTA HUMORAL AL ESPERMA

Las células plasmáticas del cervix son las principales productoras de inmunoglobulinas en el tracto - genital femenino. El moco cervical contiene Ig A, S Ig A, Ig G y pequeñas cantidades de Ig M, y componentes del - complemento.

El tracto genital femenino selecciona en cierta manera a los espermatozoides, prueba de ello es que - solo el 5 % de los espermatozoides alcanza el ovioducto en los mamíferos. La posibilidad de que dicha selección

tenga una base inmune concuerda con la observación de que espermatozoides tomados del útero en ratones y conejos presentan anticuerpos en su superficie, mientras que los tomados del ovioducto no (COHEN y WERRETT, 1975).

Existen diversos mecanismos por los cuales anticuerpos antiesperma pueden interferir con el éxito de la reproducción:

1) interfieren con la movilidad de los espermatozoides y su penetración a través del moco cervical (RÜMKE y HELLINGER, 1959).
2) Lisis de espermatozoides por activación del complemento (BEER y NEAVES, 1978)
3) Impiden la capacitación del esperma (BEER y NEAVES, 1978).
4) Bloqueo de la interacción esperma-ovocito (HAAS y col., 1980).
5) Fagocitosis de espermatozoides por la actividad opsonizante de los anticuerpos unidos a su superficie (LONDON y col., 1985).

II.1.4. RESPUESTA CELULAR AL ESPERMA

La existencia de una respuesta celular local uterina a los espermatozoides fue demostrada por BEER y -

BILLINGHAM (1974) quienes al introducir espermatozoides procedentes del epidídimo en el interior del útero de ratas provocaron una sensibilización, causando una marcada respuesta inflamatoria local a las 24-48 horas de la reexposición a los espermatozoides.

II.1.5. PROPIEDADES INMUNOREGULADORAS DEL PLASMA SEMINAL

Se ha descrito "in vitro" distintas propiedades inmunoreguladoras del líquido seminal, entre las más importantes tenemos:

- Inhibición de la proliferación de células T estimuladas por mitógenos, antígenos y células alogénicas; (MARCUS y col, 1983; VESELSKY y col., 1985).
- Inhibición de la síntesis de anticuerpos tanto dependientes como independientes de células T, por actuación directa sobre células B y no por la generación de células supresoras (THOMAS y ERICKSON, 1984).
- Inhibición de determinadas propiedades microbicidas del suero y granulocitos frente a diversos microorganismos (BROOK y col., 1981).
- Disminución de la actividad del complemento (PRICE, 1984; TARTER , 1984).
- Inhibición de la actividad natural Killer (MARCUS y col, 1985).

Recientemente se ha publicado una amplia revisión por JAMES y HARGREAVE (1984) sobre las propiedades inmunosupresoras del plasma seminal y su posible significación clínica.

II.2. INMUNOCOMPETENCIA GENERAL MATERNA

En la literatura médica, encontramos bastantes evidencias para pensar que la mujer embarazada responde peor que la no gestante a determinados agentes infecciosos. Las infecciones virales, hepatitis (KHUROO y col., 1981) influenza (GREENBERG y col., 1958), sarampión y viruela (AMSTEY, 1984), varicela (HARDY, 1965) y poliomielitis (SIEGEL y GREENBERG, 1955) presentan una elevada tasa de ataque o una mayor morbilidad o mortalidad durante el embarazo. Así, un estudio prospectivo sobre la hepatitis no-A no-B, demostró que mujeres embarazadas presentaban una tasa de ataque, ocho veces mayor que hombres o mujeres no embarazadas. Además, mujeres gestantes infectadas padecían diez veces más brotes de hepatitis fulminante que el grupo de hombres o mujeres no embaradas infectadas (KHUROOy col., 1981). Lasinfecciones genitales causadas por el virus herpes simple se encuentran dos o tres veces con más frecuencia durante el embarazo (YOUNG y col., 1976). También se incrementa en la gestación, la susceptibilidad a padecer infecciones por

citomegalovirus (AMSTEY, 1984). En animales de experimentación se ha demostrado un aumento de la susceptibilidad a infecciones por herpes virus tipo 2 (YOUNG y GOMEZ, 1979) y una reactivación y persistencia de infecciones producidas por citomegalovirus (GRIFFITH y col, 1983).

En ratas gestantes se ha comprobado que disminuye la resistencia frente a infecciones por Listeria monocytógenes y Toxoplasma gondii (LUFT y REMINGTON, 1982).

También algunas infecciones micóticas se han encontrado aumentadas en frecuencia o severidad durante el embarazo. La tasa de aislamiento vaginal de Cándida Albicans aumenta durante la gestación y se eleva el riesgo de diseminación de infecciones producidad por Coccidioides immitis (PURTILO, 1975).

La malaria también empeora durante el embarazo -- (VAN ZON yELING, 1980).

Entre las infecciones bacterianas, la lepra se ha incluído en el grupo de infecciones que empeoran con la gestación. En un estudio prospectivo, de 114 mujeres con distintas formas de lepra, se demostró que el 37 % empeoraba durante la gestación (DUNCAN y col., 1981).

Muchos autores suponen que este aumento de infec-

ciones durante el embarazo es debido a una diminución de la respuesta inmune materna (MEDAWAR, 1953; BEER y BI-- LLINGHAN, 1971; PURTILO, 1972; BILLINGTON, 1975; MORTON y col., 1976; ANDERSON, 1978; ROCKLIN y col., 1979; TANAKA, 1983), destacando actualmente los trabajos de SERON - y col., (1985), los cuales encuentran una correlación -- entre la aparición de complicaciones infecciosas postcesarea y la baja respuesta inmune materna, aconsejando como tratamiento profiláctico de dichas infecciones fármacos inmuno estimuladores bajo control inmunológico desde el primer día del postoperatorio.

Algunos autores piensan que el incremento de la - incidencia de infecciones durante el embarazo no se debe a un defecto inmunológico, sino al stress que sufre la - mujer durante la gestación, a la mayor exposición ambiental a los agentes infecciosos o a las alteraciones endocrinas (PAVIA y STITES, 1985). Así el momento de la incidencia de poliomielitis en mujeres embarazadas encontrado por SIEGEL Y GREENBERG (1955) se atribuyó a su pari-- dad y al incremento de la exposición a los agentes infecciosos. De igual manera, D'CRUZ y col., (1968) encuen--- tran que el aumento de hepatitis en gestantes de Bombay - estaba asociado con anemia severa y malnutrición.

PURTILO, (1975) investigando la muerte de mujeres gestantes por infecciones fúngicas demostró que con la -

excepción de coccidioidomicosis, todas las pacientes estaban inmunosuprimidas, como resultado de determinadas condiciones clínicas y tratamientos. DE MARCH (1975) no encontró recaídas en mujeres tuberculosas durante el embarazo, siempre que el tratamiento adecuado se mantuviera.

En contraste con pacientes que reciben drogas inmunosupresoras, las mujeres gestantes no son más susceptibles a infecciones oportunistas (PAVIA y STITES, 1985).

Morfológica e histológicamente los tejidos linfoides durante la gestación experimentan algunos cambios, habiéndose observado estas variaciones en animales de experimentación. Así, encontramos una reducción de tamaño en el timo (ANDERSON, 1978) y un incremento de volumen en bazo y algunos ganglios linfáticos (NELSON y col, 1967; CHATTERJEE-HASROUNI y col, 1980).

El timo involuciona más en embarazos alogénicos que singénicos (CHAOUAT y col., 1982 b).

En los ganglios linfáticos donde drena el útero se ha encontrado durante embarazos alogénicos un aumento de peso y tamaño (MARONI y DE SOUSA, 1973; BEER y col., 1975) y un aumento en la acumulación de linfocitos y proliferación celular (ANSELL y col., 1978), aunque HETHERINGTON Y HUMBER (1977), no encontraron diferencias en los

cambios de peso entre embarazos alegénicos y singénicos. Estas variaciones en órganos linfoides se acompañan de - cambios en sus poblaciones celulares, por ejemplo, en -- los ganglios linfáticos para-aorticos, donde drena el útero de ratonas gestantes, hay un considerable aumento en - los niveles de linfocitos B en los últimos dias de la gestación, acompañado de un ligero descenso en los niveles de linfocitos T, siendo estos cambios independientes de si - el embarazo es alogénico o singénico (NEWPORT y CARTER, 1983; CARTER y col., 1983 ; CARTER y DRESSER, 1983).

CHATTERJEE-HASROUNI y col (1980) observaron un -- descenso inicial en el número absoluto de células T en - ganglios linfáticos paraaoórticos durante embarazos singénicos y alogénicos, y no observaron ningún cambio en - el número de células B, sin embargo, BAINES y col., --- (1977) no encuentran cambios en el número de células T y B en los ganglios linfáticos para-aórticos durante --- embarazcs singénicos o alogénicos.

En el bazo de ratonas gestantes se produce un aumento de tamaño, un descenso en el número de células T citotóxicas, y un aumento en el contenido de células B y células esterasa positiva. En ratonas desnudas (atímica) - gestantes se encuentra el mismo grado de aumento del bazo y del incremento del número de células B durante el - embarazo que en ratonas embarazadas normales (MATTSSON,

1983), lo cual nos indica la escasa influencia tímica en los cambios esplénicos durante el embarazo.

Antes de entrar a analizar los componentes humoral y celular de la respuesta inmune durante el embarazo veamos el comportamiento del sistema del complemento y de la beta-2 microglobulina. THOMSON y col., (1976) no encontraron evidencias que demostraran un incremento de actividad del sistema de complemento en el suero de mujeres embarazadas, sugiriendo estos autores que la activación del complemento en embarazadas se haya regulado por la placenta. Sin embargo, KITZMILLER y col., (1973) observaron que los niveles de complemento (CH50) y de C3 aumentan progresivamente durante el embarazo, aunque no aclararon si estos cambios eran reflejo de cambios inflamatorios, o más bien relacionados con alteraciones hormonales.

Según algunos autores la fuente más importante de beta-2 microglobulina (B2m) circulante son los linfocitos, por lo que los niveles en plasma de B2m pueden indicar el nivel de actividad de estos, habiendo descartado previamente alteraciones de filtrado glomerular. BISCHOF y col. (1984) observaron un descenso en la concentración plasmática de β2m entre la 8-14 semana de gestación y un aumento hacia la 34 semana. Estos autores correlacionan los niveles de B2m con la estimulación antigénica que

ejerce el feto. Así, mujeres que comparten antígenos de histocompatibilidad con su marido tienen disminuída la - concentración de B2m durante la gestación, respecto a -- embarazos control.

II.2.1. RESPUESTA INMUNE HUMORAL MATERNA

A pesar de que algunos autores no encuentran variaciones en las concentraciones plasmáticas de IgG, IgM e IgA en embarazadas normales (GUDSON, 1969), hoy día los resultados nos inducen a pensar lo contrario, al menos - en algunos tipos de Ig. Lo que no queda tan claro es a - que se deben estas variaciones.

MARGULIS y col., (1971) encuentran niveles de IgG disminuída en los estadios finales de la gestación, suponiendo dichos autores que es debido a un aumento de la - transferencia placentaria. Otros autores observan además del descenso de IgG un descenso en la concentración de - IgA, aclarando que el descenso de IgG es más pronuncia - do en primigestas que en segundigestas (OSTENSEN y col., 1983). En un estudio longitudinal realizado en 16 mu-- jeres embarazadas sanas, MILLER y ABEL (1984) comproba-- ron que los niveles en suero de IgA e IgG se elevaban al inicio del embarazo, descendiendo después de la 17 semana, quedando la IgA después de la 20 semana a los mis-

mos niveles que en mujeres no embarazadas, y la IgG permanecía disminuída durante todo el embarazo, incluso en el segundo día postparto. Por el contrario, comprobaron como los niveles de IgM descendían desde el inicio del embarazo manteniéndose disminuídos hasta después del parto. Pocos trabajos se han publicado referentes a los niveles de IgD e IgE, aunque la primera según algunos se eleva a término (GUDSON Y PRICHARD, 1972). Es de destacar el trabajo de BABOONIAN y GRIFFITHS (1983) ya que arrojan nueva luz sobre el tema, pues si bien encuentran que los títulos de anticuerpos en suero frente a los virus herpes simple, sarampión, rubeola e influenza A disminuyen durante la gestación, alcanzando sus valores mínimos en el momento del parto (excepto para los anticuerpos anti-influenza A que se alcanza en el 3º trimestre), atribuyen estos cambios a un efecto de hemodilución, y no a un defecto inmune.

Debido a los distintos métodos usados a la hora de estudiar los inmunocomplejos circulares, son escasos los datos que pueden compararse entre sí. No se han detectado inmunocomplejos circulantes en embarazadas normales usando la técnica de células Raji (KNOX y col.,1978; ni con la técnica de fijación de Clq radiomarcado (KNOX y col., 1978; POPE y col.,1982), ni con el ensayo de precipitación en polietilen-glicol (D'AMELIO y col.,1979). En cambio sí se han detectado inmunocomplejos circulantes durante la gestación, con la técnica de inhibición de aglutinación por latex (MASSON y col.,1977), y con la técnica de fijación de -

C1q marcado con enzimas (STIMSON y col.,1981). Algo similar ocurre con los niveles de factor reumatoide durante la gestación, unos autores lo encuentran incrementados (POPE y col.,1982) otros sin variaciones (OSTENSEN y col.,1983) y otros disminuídos (VEJTORP, 1979); y con los autoanticuerpos, disminuidos (EVRON, 1984); sin variación (OSTENSEN y col.,1983) o aumentados (FARMAN, 1984).

Durante la gestación se produce una amplia variedad de anticuerpos frente a antígenos fetales (Tabla 1), siendo quizá el ejemplo más conocido la producción de anticuerpos anti-Rh por mujeres Rhdd que portan un feto RhD -- (WOODROW, 1970).

En la Tabla 1 vemos algunos de los anticuerpos que se encuentran en mujeres gestantes, aquí comentaremos solo los más interesantes.

En mujeres gestantes se encuentran anticuerpos frente a antígenos HLA A,B,C. Estos anticuerpos solo se detectan en el 20-30% de las primigestas, aumentando la incidencia y niveles con sucesivos embarazos (VAN DER WERF,1971; DOUGHTY y GELSTHORPE,1974), con frecuencia son extraídos de placenta (DOUGHTY y GELSTHORPE,1974,1976; JEANNET y col., 1977; RAGHUPATTY y col.,1984). Los títulos de estos anticuerpos se elevan durante el embarazo y decrecen lentamente durante el postparto. Sin embargo, en algunas mujeres se pueden detectar estos anticuerpos durante meses, e incluso años después del últi

TABLA 1

ANTIGENOS FETALES Y PLACENTARIOS FRENTE A LOS QUE LA MADRE DESENCADENA UNA RESPUESTA INMUNE (WEGMANN y GILL, 1983).

ANTIGENOS			TIPO DE RESPUESTA	
Tipo	especificidad	especie	humoral	celular
MHC	HLA ABC	Humanos	+	+
	HLA DR	Humano	+	
	H-2	Ratón	+	+
	RT1	Rata	+	+
Antígeno placentario	Sincitiotrofoblasto	Humano	+	+
	Mixto con linfocitos (TLX)	Humano	+	
	Mixto con endotelio, monocitos y células de cordón	Humano	+	
	Mixto con tejidos de riñón	Humano	+	
Células rojas sanguíneas	ABO	Humano	+	
	Rh	Humano	+	+
Otros	H-Y	Humano		+
		Ratón	+	
	Complejo menor de histocompatibilidad	Ratón		+
	Oncofetal	Ratón	+	+
	Inmunoglobulina	Humano	+	
		Conejo	+	

mo embarazo. Se han detectado, pero con menos frecuencia, anticuerpos anti-DR en suero de embarazadas normales (TONGIO y col, 1983).

Actualmente han despertado mucho interés los anticuerpos bloqueantes del tipo de anticuerpos anti-idiotipo frente a anticuerpos anti-HLA paterno (JAKOBISIAK y col., 1984) y frente al receptor de células T maternas para antígenos HLA paternos (SUCIU-FOCA y col., 1983; SINGAL y col., 1984). También existen continuas aportaciones en el campo de los anticuerpos frente a antígenos compartidos por linfocitos y células del Trofoblasto (TLX, RFc) (STEWART y col., 1984; FAULK, 1985) y frente a antígenos compartidos por células endoteliales, monocitos, células de placenta y células cordonales (PASSETTO, 1985). También se han encontrado anticuerpos anti-fetales, tejido específico (BILLINGTON y col., 1984). Sobre el posible papel inmunoregulador de estos anticuerpos hablaremos a la hora de analizar las causas que evitan el rechazo fetal.

II.2.2. ELEMENTOS CELULARES DE LA RESPUESTA INMUNE MATERNA

Con la excepción de células T poca atención se ha prestado al resto de los componentes celulares de la inmunidad, así de los neutrófilos solo se ha descrito un

incremento en la actividad intracelular de algunos enzimas (FLEMING, 1975), lo que contrasta con una actividad migratoria al azar que no se diferencia de modo significativo de la de mujeres embarazadas (JONES y col., 1983).

Ningún papel importante se le ha atribuído al eosinófilo en reproducción humana, a pesar de ser bien conocidas las variaciones que presentan los eosinófilos endometriales durante el ciclo ovárico (TCHERNITCHIN y col., 1971). Por esto sorprendió, en cierto modo, encontrar en suero de embarazada una sustancia inmunoquímicamente similar a la proteína básica mayor granular de eosinófilos, aumentando durante la gestación y disminuyendo a niveles normales después del parto (MADDOX, y col., 1983). Esta proteína parece tener un origen distinto al eosinófilo principalmente porque no se ha encontrado correlación entre la concentración en suero de dicha proteína y el número de eosinófilos en sangre periférica, lo cual contrasta con estudios previos en pacientes con eosinofilia, y porque no se ha demostrado elevación de los niveles en suero de otras proteínas eosinófilas durante la gestación. Probablemente, su origen sea placentario, pues los mismos autores han encontrado proteína básica mayor granular de eosinófilo inmunoreactiva en placenta. Falta por comprender cual es su verdadera función durante el embarazo.

Ensayos con animales sugirieron la existencia de

una estimulación del sistema retículo endotelial durante la gestación. Se observó un incremento en el aclaramiento sanguíneo de partículas inyectadas en ratas (DOUGLAS y GROGAN, 1976) y ratones (SLJIVIC y col., 1975), aunque también se ha descrito en ratonas un descenso de actividad (MICKLIN y BILLINGTON, 1979). LUFT y REMINGTON (1984) observaron que macrófagos peritoneales de ratonas embarazadas tenían disminuída la capacidad de activarse cuando se estimulaba intraperitonealmente con una inyección de Corinebacterium Parvum, estos macrófagos activados de gestantes inhiben la replicación intracelular de Toxoplasma gondii, pero no podían lisarlo. Sin embargo, conservaba intacta su capacidad citotóxica frente a tumores. No debemos olvidar que en ratonas preñadas, estos mismos autores, han demostrado incremento de la susceptibilidad a padecer infecciones por Listeria monocytógenes y Toxoplasma gondii (LUFT y REMINGTON, 1982).

La migración al azar de monocitos de mujeres grávidas aumentó en el segundo y tercer trimestre, regresando a valores normales en el postparto. No obstante, dichos monocitos presentan una respuesta quimiotáctica normal a la caseina (JONES y col., 1983).

El trasplante de injertos nos sirve para medir la inmunidad celular en vivo, esta técnica se usó con bastante frecuencia hace unos 15 años en animales de experi

mentación. De la gran cantidad de ensayos que se hicieron podemos sacar las siguientes conclusiones:

1) Los injertos cutáneos son siempre rechazados por las mujeres gestantes (ANDERSEN Y MONROE, 1962) y por las ratonas y conejas preñadas.

2) Los embarazos sucesivos facilitan el injerto (BREYERE y BARRET, 1960; BAINES y col., 1980).

3) Los injertos cutáneos paternos sobreviven durante más tiempo en las hembras después del parto (VOLKOKA y MAYSKY, 1969; ANDERSON, 1970) siempre que sean trasplantados a los pocos días del alumbramiento (DAVID y col., 1967; -- BEER y BILLINGHAM, 1971). Los aloinjertos cardíacos de rata son rechazados durante las fases iniciales y media del embarazo, pero muestran una supervivencia más prolongada si son transferidos al final de la gestación o poco después del alumbramiento (HERON, 1971, 1972).

HEAD (1982), al realizar trasplantes de piel paterna en ratonas postparto, observó que dichos injertos se rechazaban al mismo tiempo que en ratonas virgenes, pero que la capacidad para producir aloanticuerpos hemaglutinantes específicos para los antígenos paternos, estaba disminuída en ratonas preñadas y postparto. Por lo tanto, un embarazo alogénico en ratas indujo una hiporespuesta inmune, sin afectarse el componente celular, pues persiste la capacidad para rechazar aloinjertos de piel paterna.

Otra técnica para estudiar la inmunidad celular - "in vivo", son los tests cutáneos, el más usado ha sido el de la tuberculina , dando resultados dispares. FINN y col. (1972) encuentran una disminución de la reacción cutánea - a la tuberculina durante la gestación. MONTGOMERY y col. (1968) observaron un ligero descenso (25 % de los casos) en el último trimestre del embarazo, y finalmente PRESENT y COMSTOCK (1975) y JONES y col. (1983) no hallan varia-- ciones significativas en los tests cutáneos de hipersensibilidad retardada realizados con estreptokinasa-estrep to-dornasa (SK-SD), extracto de cándida albican y tétanus toxoide. HOLLAND y col.(1984) provocaron una reacción de hipersensibilidad tardía frente a hematíes de burro, mediante la introducción de linfocitos sensibilizados y antígeno en ratonas preñadas, no encontrando diferencias - con el grupo control en la reacción inflamatoria, pero sí un defecto en la fase sensibilizadora o inductora de la - respuesta primaria de hipersensibilidad tardía.

En mujeres embarazadas, el ensayo de inmunidad celular que quizás se ha estudiado más ampliamente y con - resultados más contradictorios, es el test de transformación linfoblástica (TTL), a partir de linfocitos de sangre periférica, principalmente con fitohemaglutinina (PHA). Este se ha encontrado disminuído por FINN y col.(1972), PURTILO y col. (1972), NELSON y col. (1973, THONG y col. ((1973), JHA y col. (1974), PETRUCCO y col. (1976), BLE-

CHER y THOMPSON (1976), GAREWAL y col. (1978), MEHROTA - (1982), BRUNHAM y col. (1983), ROSSIER y col. (1983), - VALDIMARSSON y col. (1983), GOODFELLOW (1983), sin --- cambios por COMINGS (1967), THIEDE (1968), LEIKIN (1972), HSu (1974), YU y col.(1975), KNOBLACK (1976), NEED y col. (1976), PLUM y col. (1978), MAJUMDAR y col. (1984), ó -- incrementado por METCALF y METCALF (1972), JONES y col. - (1983). Utilizando concanavalina-A como mitógeno, se obtiene un descenso de la transformación linfoblástica --- (MEHROTA, 1982 ; VALDIMARSSON y col., 1983) al igual - que con PWM (HSU, 1974). Si en lugar de mitógenos, usamos antígenos encontramos para SK-SD una respuesta disminuída (BRUNHAM y col. (1983), o aumentado (JONES y col., 1983), para el virus de la rubeola no se encuentra modificación en la transformación linfoblástica respecto a mujeres no embarazadas (ROSSIER y col., 1983) y para antígenos como C.Trachomatis, tétanus toxoide y antígeno del test cutáneo para las paperas, encontramos una disminución del TTL durante la gestación (BRUNHAM y col., 1983). El porqué de estas diferencias lo veremos más adelante, pues si bien, la gran mayoría se explican por diferencias en el método seguido, otras requieren una discusión aparte.

En esta línea destaca el trabajo de ANDERSON (1978) realizado con ratones. Encontrando una disminución en la respuesta a PHA, Con-A y LPS en bazo y ganglios linfáticos de ratonas preñadas, pero sin observar diferencias entre

los distintos ganglios. No observa diferencias entre gan-- glios paraaórticos y axilares.

La mayoría de los autores no encuentran diferencias entre la transformación linfoblástica espontánea de - mujeres gestantes y mujeres no embarazadas (YU y col., 1975; NELSON, 1973; HSU, 1974: JONES y col., 1983) sin embargo, - también se ha descrito un incremento a lo largo del embarazo - (PETRUCCO y col., 1976; GOODFELLOW, 1983)

En presencia de suero de mujer no gestante (suero heterólogo) linfocitos de mujeres embarazadas proliferan - igual que linfocitos de no embarazadas, cuando los enfrentamos con linfocitos paternos (KNOBLOCH y JOUSA, 1976; ROBERT y col. 1973). Pero cuando son los linfocitos fetales - los que estimulan a las células maternas, se observa una - débil respuesta (KNOBLOCH y JOUJA, 1976; LAWLER y col., -- 1975). No obstante diversos autores han descrito una disminución en la respuesta de linfocitos maternos en cultivo - mixto con linfocitos de un tercer individuo (THONG y col., 1973).

Ensayos realizados con material humano han demostrado, en sangre periférica de embarazadas, células citotóxicas frente a fibroblastos adultos, pulmón fetal y células diana placentarias (TIMONEN y SAKSELA, 1976). No obstante, la naturaleza de estas células citotóxicas es des--

conocida, ya que dicha actividad podría ser debida a células natural killer, killer ó macrófagos, y no a células -- T citotóxicas, pues la lisis observada no es restringida a MHC. En la mayoría de los trabajos, las células de bazo - y ganglios linfáticos de ratonas alogénicamente preñadas - estudiadas durante la primera y subsecuentes gestaciones, se ha encontrado con baja o ninguna actividad de células - citotóxicas (PAVIA y STITES, 1979; GOTTESNAN y STUTMAN, 1980). La excepción es el trabajo de SMITH y col., (1978) quienes encuentran bajos niveles de citotoxicidad no específica, - solo en un tercio de las hembras preñadas alogénicamente.

Igualmente se han obtenido resultados conflictivos con los experimentos "in vitro" que usan solo aloantígenos - paternos como estimulantes en la reacción linfocitaria mixta (MLR). Algunos trabajos han comunicado niveles elevados de células linfoides con actividad citotóxica en hembras -- preñadas frente a controles vírgenes (SMITH, y col., 1978), mientras otros no encuentran diferencias (PAVIA y STITES, 1979, WEGMANN y col., 1979 ; GOTTESMAN y STUTMAN. 1980). - Estas contradicciones pueden ser reflejo de diferencias -- técnicas en los experimentos, así como de diferencias en la sensibilidad inmune de las distintas cepas usadas.

Por lo tanto, no hay evidencias para pensar en -- una actividad de células T citotóxicas durante la gestación.

Es interesante destacar que cuando bajo condiciones experimentales se inducen células T citotóxicas en la madre frente a antígenos paternos, el embarazo no se afecta (WEGMANN y col., 1979).

La producción de linfoquinas, también se ha usado para estudiar el brazo celular de la respuesta inmune. Linfocitos de mujeres gestantes cultivados "in vitro" con células mononucleadas de cordón o paternas, o antígenos placentarios producen un factor inhibidor de la migración del macrófago (MIF) en 24 horas (ROCKLIN y col., 1973). Esta respuesta materna es indicativa de un estado específico de -- presensibilización, dado que si los linfocitos maternos los cultivamos con células mononucleadas de un tercer individuo, no se produce MIF en este período de cultivo (ROCKLIN y col. 1976). Habiéndose encontrado una correlación entre la producción de MIF y la paridad, lo cual indica que la sensibilización es progresiva con repetidas exposiciones al antígeno (ROCKLIN y col., 1973).

Las células natural killer comenzaron a tener --- importancia en inmunología de la reproducción, a partir del momento en que se observó que células del trofoblasto portaban estructuras diana para células NK, tanto en ratones - cómo en humanos (LALA y col., 1983).

En ratonas preñadas se ha visto un aumento de cé-

lulas natural killer en bazo (CHATTERJEE-HASROUNI y col., 1980) y un incremento de su actividad (CHATTERJEE-HASROUNI y col., 1984). Sin embargo, LUFT y REMINGTON (1984) observaron un descenso de la actividad NK esplénica. FURUKAWA y col. (1984) observaron un descenso de la actividad NK en la primera mitad de la gestación y un incremento en la segunda mitad.

En humanos, se ha descrito un descenso del número de natural killer en sangre periférica durante la gestación (TODER y col., 1984) y la actividad NK se ha visto descendida en sangre periférica (TARTOF y col., 1984, BAINES y col, 1978).

LALA y col. (1983) apreció que la actividad NK estaba aumentada en la primera mitad del embarazo solo en primigestas y que dicha actividad disminuía en todas las embarazadas en la segunda mitad. La citotoxicidad mediada por células NK-like se ha encontrado disminuida en mujeres embarazadas (TARTOF y col., 1984).

II.3. ESTUDIO INMUNOLOGICO DE LA DECIDUA

La decidualización tiene lugar en el endometrio uterino durante el embarazo, como respuesta a los cambios hormonales y a la implantación del blastocito. También, se

puede inducir experimentalmente en roedores, mediante estí mulos artificiales. Aunque afecta a todo el endometrio es más intensa en la zona de implantación, originando un mi-- croambiente propicio para el desarrollo de la placenta he mocorial. Por desgracia, muchos autores intercambian los - términos "tejido decidual" y "células deciduales" sin te-- ner en cuenta la heterogenea población celular que se encuen tra en la decidua (células deciduales, fibroblastos y otros - elementos estromales, linfocitos, monocitos, granulocitos, ma crófagos, células endometriales granulares y vasos sanguíneos).

El posible papel inmunológico de la decidua fué - postulado inicialmente por KIRBY y col. (1966), basándose en la observación siguiente, realizada en ratones: blasto- citos de 4,5 días no se desarrollan debajo de la cápsula re nal de ratones aloinmunizados específicamente, pero sí pro gresan normalmente en el útero decidualizado por un pseudo embarazo de animales similares. KIRBY y COWELL (1968) pro- pusieron que la decidua podía prevenir la hiperinvasión -- del trofoblasto, dado que conos ectoplacentarios transplan tados en ratones ovariectomizados provocó la invasión tro- foblástica del miometrio, lo cual podría haberse prevenido por un útero decidualizado.

Actualmente y tras los trabajos de BEER y BIO -- (1982), LALA y col. (1983) estos resultados se interpretan como bloqueo del brazo aferente de la respuesta inmune, po siblemente por la decidua. Un análisis más detallado en es

te sen ido lo haremos en otro apartado.

Analizemos ahora más detalladamente las células - deciduales propiamente dichas. Las células deciduales, son el resultado de la proliferación y diferenciación de las - células endometrio estromales, las cuales podrian localizarse permanentemente en el endometrio o proceder de otras zonas. Debido al importante papel inmunoregulador que hemos visto, se pensó que podrían proceder de la médula osea. -- KEARNS y LALA (1982) demostraron que células deciduales - que aparecen en ratonas pseudoembarazadas, son descendientes de precursores derivados de médula ósea. No excluyendo la posibilidad de que una parte de las células precursoras residiera permanentemente en el útero.

Mediante anticuerpos monoclonales se ha podido -- comprobar, que las células deciduales comparten algunos -- marcadores de superficie, con otras líneas celulares, derivadas de médula ósea (KEARNS y LALA, 1984; LALA y col., -- 1983). Así, la mayor parte de células deciduales expresan el antígeno Thy-1, elevándose esta proporción con el incremento de la edad gestacional. También se han detectado receptores Fc en la mayoria de estas células. Sin embargo, - escasa o nula es la expresión de antígenos Lyt o Ia.

Se han demostrado mediante anticuerpos monoclonales antígenos de superficie específicos de células decidua

les, como es el caso de Dec-1 (KEARNS y LALA, 1983 ; LA LA y col.,1983), el cual, permite diferenciarlo de otras lineas celulares estromales derivadas de médula ósea, como son las células de Langerhans de la piel o células reticulares dendríticas de los órganos linfoides. A parte de actuar como soporte nutricional durante el inicio de la placentación, las células deciduales tienen un papel endocrino sintetizando prostaglandinas, prolactina y relaxina (JAFFE,1986) y un papel inmunoregulador que veremos en otro apartado. No debemos olvidar que en decidua se han identificado un número importante de leucocitos maternos (BULMER y SUNDERLAND,1983). Siendo más abundanteslos linfocitos al inicio de la gestación (BULMER Y SUNDERLAND, 1984) y los macrófagos a término (BULMER Y JOHSON,1984). Los granulocitos endometriales maternos, que se encuentran en el endometrio de no embarazadas durante la segunda mitad del ciclo ovárico, se hacen evidentes en el primer -- trimestre de gestación, en las proximidades del trofoblasto invasor y alrededor de las glándulas uterinas maternas (PIJNENBORG y col., 1980).

Las glándulas endometriales maternas destacan en el primer trimestre del embarazo en áreas cercanas a la implantación y lugares de desarrollo de los tejidos fetales extraembrionarios. JOHSON y BULMER (1984) comprobaron que el epitelio glandular uterino durante el embarazo no expresa antígenos de histocompatibilidad maternos, pero en cambio sí manifiesta antígenos característicos del trofoblasto fetal.

KABAWAT y col. (1985) en humanos y usando anticuerpos monoclonales no detectaron en el lugar de la implantación ni células B ni NK, observando escasas y esparcidas células T. En cambio, encontraron numerosos macrófagos a los que atribuyeron un papel supresor. No obstante, ROSSANT (1984) demostró células NK y células sensibles a mitógenos para células B en decidua de ratón. SLAPSYS y CLARK (1984) encuentran también células NK en decidua.

La fusión entre el trofoblasto y las células uterinas se discute actualmente. Algunos autores la han descrito en humanos (PARK, 1968; ENDERS, 1976), otros, solo encuentran finas protusiones citoplasmáticas de las células deciduales próximas a las células trofoblásticas, pero sin observar fusiones (TEKELIOGLU-UYSAL, 1975). Tanto las células deciduales, como las trofoblásticas son fagocíticas habiéndose observado la captación de material nuclear marcado fetal o materno respectivamente (LEDOUX y CHARLES, 1967; KAYE, 1977). Estudios con embriones implantados artificialmente no revelan enzimas híbridas, las cuales, deberían esperarse si las células maternas se fusionaran con el trofoblasto (CHAPMAN y col, 1972; GEARHART y MINTZ, 1972).

II.4. PASO DE ANTIGENOS FETALES A LA CIRCULACION MATERNA

Eritrocitos, leucocitos y trofoblasto son las prin-

cipales células fetales detectadas en sangre materna. Los eritrocitos fetales pueden identificarse en la circulación materna, gracias a su típica hemoglobina, produciéndose el paso en todas las etapas del embarazo, pero principalmente durante el último trimestre o en el alumbramiento (MCLAREY y FISH, 1966; ZIPURSKY y col., 1963). El elevado número de eritrocitos fetales en la circulación materna, nos puede - llevar a pensar en la posibilidad de un paso de células nucleadas, y en efecto, se han determinado en mujeres embarazadas leucocitos y plaquetas fetales (DESAI y GREGER, 1963) y en estudios más concretos, linfocitos fetales (SCHRÖDER, 1975; IVERSON y col., 1981).

Se han detectado células trofoblásticas en sangre de embarazada extraída de venas uterinas y en pulmón. - Hoy día, se han descrito tres tipos distintos de células - trofoblásticas presentes en sangre periférica de mujeres - gestantes entre las seis semanas de gestación y el parto. Un grupo de células son polinucleadas, un segundo grupo diploide y un tercero de células anucleadas, derivadas del - sincitiotrofoblasto. Sus funciones y posibilidades clínicas se investigan actualmente (COVONE y col., 1984). Algunos - autores han encontrado aumentada la entrada de células trofoblásticas en la circulación sanguínea materna durante la pre-eclampsia (JONES y FOX, 1980).

Junto con el material celular pasarán a la madre -

sustancias que le serán extrañas, como es el caso de alotipos de lipoproteina fetales que sensibilizan a la madre -- (DURWALD y col., 1965) y el de inmunoglobulinas fetales, - principalmente Ig G (FUDENBERG y FUDENBERG, 1965). En este sentido, es interesante el caso que publicaron GOOD y - ZAC (1956), quienes estudiaron una madre agammaglobulinémica carente de células plasmáticas y que produjo anticuerpos como respuesta a la inmunización con bacilos tifoideos.

III. ESTUDIO INMUNOLOGICO GENERAL DEL FETO

A pesar de los trabajos de KREIDL y MANDL en 1904, en los que describían la capacidad de fetos caprinos de -- responder inmunológicamente frente a sangre heteróloga inyectada en útero, el feto fue considerado inmunológicamente incompetente hasta los años 50, en que se dieron a conocer los experimentos realizados por SCHINKEL y FERGUSON (1953) en Australia, demostrando como fetos de cordero podían rechazar aloinjertos de piel en útero. Analizemos someramente, en primer lugar, la ontogenia del sistema inmune y la respuesta fetal a los antígenos maternos, antes de estudiar - la aportación fetal a la interfase materno-fetal.

III.1. DESARROLLO DE LA INMUNOCOMPETENCIA FETAL

A la hora de analizar el estudio inmune fetal debemos separar dos aspectos, uno propiamente fetal como es el desarrollo del sistema inmune y otro relacionado con la madre, pues el feto debe, en primer lugar, evitar ser rechazado por la madre, y en segundo lugar, evitar que su incipiente sistema inmune reaccione frente a la madre. Este segundo aspecto lo analizaremos someramente, pues lo que más nos interesa es aquello que evite el rechazo materno del aloinjerto fetal.

La inmunocompetencia humoral fetal frente a determinados antígenos se origina precozmente a pesar del escaso número de células inmunocompetentes y de encontrarse inmaduros los órganos linfoides secundarios, habiéndose sugerido que las células respondedoras sean las células linfoides del hígado fetal (ROCKLIN y col., 1979; KAYE, 1980), el cual, según algunos autores, sería en los mamíferos el equivalente de la bolsa de Fabricius (OWEN y col., 1974).

En fetos de corderos, el aloinjerto de piel es rechazado tan eficientemente como en el adulto, a partir de la mitad de la gestación, lo que nos indica un sistema maduro de células T (SIVERSTEIN, 1972).

Actualmente se cree que una de las principales fun

ciones del timo es educar a las células precursoras de linfocitos T para distinguir lo "propio" de lo "no propio" (LE DOUARIN y col., 1984).

Algunos autores creen que la incapacidad de neonatos para responder a algunos antígenos es el resultado de la supresión producida por la Ig G materna, adquirida de forma natural y no por un defecto del sistema inmune neonatal (JONES, 1976). Aunque otros piensan que esta falta de respuesta se debe a una inmadurez de células T (ETLINGER y CHILLER, 1979), células B (CHENG y col., 1984) o macrófago- (HARDY y col., 1973) y/o la presencia de células supresoras o factores inmunosupresores de los que hablaremos posteriormente.

Otro aspecto de la inmunocompetencia fetal es el desarrollo de su antigenicidad. Posteriormente veremos como se han descrito en ratones, aunque con resultados contradictorios, antígenos H-2 en el estadío de mórula y al inicio del estadío de blastocito (HEYNED, 1980; KRCO y GOLDBERG, 1977).

Los carbohidratos antigénicos de las células rojas sanguíneas que componen el sistema ABO, se detectan desde la 5-6 semana de gestación, pero no alcanzan su madurez hasta los 2-4 años de vida. Estos antígenos están presentes en todas las células somáticas y en ciertas bacterias gram-ne

gativas intestinales lo que explica la presencia de isoaglutininas en niños de 6 meses o más. Estos hechos -- también explican el hecho de que niños primogénitos -- puedan ser afectados por la incompatibilidad ABO y que el incremento de la gravedad con subsecuentes embarazos pueda no ocurrir, dado que las células rojas fetales - son pobremente inmunológicas y las células fetales somáticas compiten con las células rojas por la IgG ma-- terna anti-ABO fetal (ROCKLIN y col., 1979).

Los antígenos de histocompatibilidad están presentes en los eritrocitos de ratas, pero no en el hombre. Estos antígenos se detectan en células mononucleadas - de sangre fetal humana (ROSENTHAL y col., 1983) y anticuerpos frente a ellos se encuentran en el suero del - 25 % de primigestas, aumentando la incidencia con embarazos sucesivos (VAN DER WERF, 1971; DOUGHTY y GELS-- THORPE, 1974). El contacto materno con las células mononucleadas sanguíneas fetales no es obligatorio para la producción de anticuerpos anti-HLA, así se han en-- contrado en suero materno después de embarazos molares (LAWLER y col., 1974).

III.2. RESPUESTA FETAL A LOS ANTIGENOS MATERNOS

Diversas sustancias se han descrito con la capaci

dad de atravesar la placenta: IgG, virus, antígenos sintéticos; la posibilidad de que células maternas frente al feto atraviesen la placenta es actualmente admitida ya que linfocitos maternos pueden detectarse durante - poco tiempo en recién nacidos normales, como se evidencia por la presencia de linfocitos de cariotipo 46 XX - en cultivos de células mononucleadas procedentes de sangre de cordón de recién nacido macho (WALNOWSK y col., 1969; FEDOROVA, 1985). Además, GEHA y REINHERZ (1983), demostraron que niños con inmunodeficiencia combinada - severa eran incapaces de rechazar células B y T materna transferidas via placenta, y que dichos linfocitos sobrevivían bastante tiempo en la circulación del niño.

La respuesta fetal frente a los antígenos anteriores va a tener un gran componente inmunosupresor, es decir, el sistema inmune fetal responde a los antígenos, pero de una manera negativa. Esto puede producirse de-- diversas formas, citando aquí, solo los mecanismos más- interesantes.

VAN TOL y col., (1983) observaron como determinadas concentraciones de antígenos, que actuaban sobre células mononucleadas sanguíneas del adulto, provocando un incremento en la respuesta de células formadoras de placas (CFP), al actuar sobre el mismo tipo de células, pero de recién nacidos, se producía un descenso en la res

puesta de CFP; encontrando el mismo efecto que en adultos con concentraciones menores. Estos autores demostraron que el descenso en la respuesta de CFP fue debido a la generación de células T supresoras antígeno específicas, sin -- aclarar si fue por un diferente procesamiento y/o presentación del antígeno por los macrófagos o por propiedad intrínseca de los linfocitos. La interacción directa de antígeno con células T en ausencia de macrófagos Ia^+ puede inducir la - generación de células T supresoras antígeno específicas -- (TSHIZAKA y ADA, 1976; PIERRE y GERMAIN, 1978). Posteriormente a este hallazgo se demostró que macrófagos de ratones - recién nacidos no presentaban correctamente el antígeno, - correlacionándose este defecto con el escaso número de macrófagos portadores de antígeno Ia (LU y col., 1979, 1980; NADLER y col., 1980). Recientemente se ha podido comprobar como la α-fetoproteína, prostaglandinas y determinadas células supresoras, inhiben la expresión de antígeno Ia en macrófagos de ratones (LU y col., 1984; SNYDER y col., 1982). Sobre este punto hablaremos en otro apartado.

En ratones neonatos se ha detectado diversas células con actividad inmunosupresora. Dichas células, se encontraron por primera vez en bazo de ratones recién nacidos (MOSIER y JOHNSON, 1975).

Posteriormente se demostró que timocitos de neonato constituían una rica fuente de células supresoras en la - síntesis de anticuerpos por células adultas (MOSIER y JOHSON, 1977). Estos autores sugirieron la hipótesis de que células supresoras existentes entre los timocitos corticales externos emigraban al bazo neonatal donde se detecta una -- actividad inmunosupresora similar. Células supresoras de ba

zo de ratón neonato, caracterizadas por anticuerpos monoclonales como Thy 1^+ Lyt 1^+2^-, inhiben la síntesis de anticuerpos por linfocitos adultos.

Existen diversas opiniones acerca de la célula sobre la cual actuarían estas células supresoras. Algunos autores, encuentran que células T de neonato pueden ejercer una actividad inhibidora sobre células B que responden a antígenos independientes de células T (MOSIER y col., 1977; HARDY y MOZES, 1978; DEKRUYFF y col., 1980). Sin embargo, la síntesis de anticuerpos T-dependientes es bastante más sensible a la supresión por células de neonato o fetales que la sítesis T-independiente (MURGITA y col., 1978; LUCKENBACH y col., 1978).

En bazo de ratones neonatos, pero no en timo, se detectan células T supresoras que inhiben la reacción injerto contra huesped (SKOWRON-CENDRZAK y PTAK, 1976), reacciones de sensibilidad por contacto (PTAK y SKOWRON-CENDRZAK, 1977), reacción linfocitaria mixta y la generación de células citotóxicas en cultivo linfocitario mixto (ARGYRIS, 1979).

El hígado fetal es un elemento fundamental en el desarrollo de la inmunocompetencia murina, por ello, se investigó la existencia en él de células inmunosupresoras. GLOBERSON y col. (1975) demostraron en ratones que células procedentes de hígados fetales o de recién naci-

dos suprimían la reacción linfocitaria mixta y la generación de lisis mediada por células. Estas células suprimen también la generación de linfocitos T citotóxicos dirigidos contra sus propios antígenos (MURAOKA y MILLER, 1983).

Recientemente se ha visto en humanos cómo, la estimulación de células procedentes de hígados fetales, de 8-12 semanas, con diferentes dosis de concanavalina A, generaba una población de células capaces de suprimir el cultivo linfocitario mixto. La supresión solo se produjo por células estimuladas por concanavalina A (RABINOWICH y col., 1983).

En humanos, a partir de sangre de cordón de recién nacidos, se han aislado células que inhiben la proliferación (OLDING y OLDSTONE, 1974, 1976) y la síntesis de anticuerpos (OLDSTONE y col., 1977) por los linfocitos maternos correspondientes. El fenotipo de las células T de sangre de cordón responsable de los efectos anteriores es $OKT3^+$ $T4^+$ $T8^-$ el cual para actuar no necesita la presencia de células $T8^+$ maternas (JACOBY y OLDSTONE, 1983).

El papel de las células $OKT8^+$ en sangre de cordón es controvertido. Algunos autores, han encontrado actividad supresora en las células $OKT8^+$ de cordón, si ha

existido antes proliferación como respuesta a determinados estímulos (HAYWARD y MERRILL, 1981).

La actividad supresora de células mononucleadas de sangre de cordón en recién nacidos medida a través de la inducción de células supresoras por concanavalina A, se encuentra aumentada respecto a adultos, según algunos autores, (POLEVA y TRUNOVA 1985) o disminuída según otros (DWYER y JOHSON, 1983).

También se han involucrado a células no-T en el ambiente inmunosupresor fetal. Habiéndose descrito dichas células en bazo de ratones neonatos. Para la mayoría de los autores serían células de estirpe monocítica (HOOPER y MURGITA, 1980; PIGUET y col., 1981). Entre sus propiedades destacamos la capacidad de inhibir la reacción linfocitaria mixta (HOOPER y MURGITA, 1980) y la inhibición de la expresión de antígenos Ia en macrófagos, mediante la liberación de prostaglandinas (SNYDER y col., 1982; PIGUET y col., 1981).

DWYER y JOHSON (1983) demostraron en humanos, que las células T de cordón umbilical eran más resistentes a las señales supresoras que las células T del adulto, observando también que células supresoras de sangre de cordón inhiben a células de adulto más intensamente que a células de cordón en la respuesta a fitohemaglutinina.

Según estos autores, esto permitiría al feto responder normalmente, mientras que las células maternas presentes en la circulación fetal estarían inhibidas.

Muchos de los resultados anteriores, que indican inmadurez inmunológica o la presencia de células supresoras en el feto, se han obtenido a partir de experimentos realizados con determinados antígenos, tales como: eritrocitos de carnero, ovoalbúmina, Listeria, TNP-Ficoll, estafilococo pyrogenes, etc. Otros estudios encuentran una perfecta funcionalidad de determinados elementos del sistema inmune fetal, al trabajar con otros antígenos tales como: E. coli (ZLABINGER y col., 1983), - Cowan 1 estafilococo aureus (UNANDER y col., 1983) y -- Streptococo β tipo III (MARODI y col., 1984).

Así como los alo-anticuerpos anti-fetales quedan retenidos en placenta, parte de las células citotóxicas frente al feto pueden atravesarla como quedó expuesto - anteriormente. El feto para defenderse de dichas células y no resultar dañado, deberá neutralizarlas. Se han aislado en cordón, células B capaces de sintetizar anticuerpos (IgM) contra células T citotóxicas maternas, - denominándose anticuerpos fetales humanos anti-células T citotóxicas (TLFA) (MIYAGAWA y col., 1981, 1982). Se - han descrito TLFA frente a las células T killer mantenidas en cultivo (MIYAGAWA, 1984). Estas células maternas

desaparecen pronto de la circulación fetal después del alumbramiento, a lo que quizás ayude la existencia de un factor citotóxico para linfocitos encontrado en leche materna (DREW y col., 1984).

Las células natural killer (NK) constituyen un grupo distinto de los grupos de células "clásicas" del sistema inmune. Han atraído la atención de los investigadores por su capacidad lítica"in vitro" frente a células tumorales. Existe una correlación positiva entre los niveles de actividad NK en el sistema murino y la resistencia "in vivo" a ciertas clases de tumores (KIESSLING y WIGZELL, 1979). Además de su capacidad lítica frente a células tumorales, las células NK tienen actividad lítica frente a células madre de médula ósea y timocitos corticales inmaduros (HANSSON y col., 1979). Como vemos, tienen una especial habilidad para lisar células con caracteristicas embrionarias (STERN y col., 1980), de aquí que se haya investigado su papel en el feto.

La actividad NK en ratones está ausente en células procedentes del hígado fetal y bazo de recién nacidos, pero aparece y aumenta rápidamente a las tres semanas de nacer. La explicación exacta de porqué no hay actividad NK en estos estudios no se conoce, pero se especula con tres posibilidades: ausencia de células NK en rato-

nes neonatos, existencia de un sistema supresor para células NK, o falta de una regulación adecuada en los niveles de interferón procedentes de macrófagos (MURGITA y col., 1983).

En humanos el número de células Leu 7^+(NK) en sangre de cordón es menor que en adultos, aunque la actividad NK se ha descrito conservada (FOA y col., 1984) o disminuida (SANCHO y col., 1985). Posteriormente se ha descrito una subpoblación linfocitaria en sangre de cordón, con actividad NK, que carece de los marcadores típicos de estas células (HNK-1, OKM1) (VITIELLO y col., 1984). El líquido amniótico suprime la actividad NK a través de un bloqueo de la capacidad lítica de células NK activadas, sin afectar a las células NK inactivadas (pre-NK) (TODER y col., 1984 b).

III.3. ESTUDIO DE LA PLACENTA

En humanos la placenta está compuesta por células trofoblásticas (expuestas a la sangre materna), células estromales derivadas del mesodermo extraembrionario, que incluyen células fibroblásticas y fagocíticas (células de Hofbauer), y el capilar fetal con su capa endotelial. Los componentes citados anteriormente, constituyen una típica vellosidad coriónica que está

revestida por dos capas de células trofoblásticas durante el inicio del período gestacional: capa periférica - de sincitiotrofoblasto multinucleado, que limita con los sinusoides maternos, y la capa subyacente de citotrofoblasto interpuesta entre la capa sincitial y el estroma velloso. Al contrario de lo que se pensaba al principio, la capa de sincitiotrofoblasto, al menos durante el inicio del embarazo, no representa un completc "sincitio", más bien, representa células multinucleadas gigantes, - las cuales, están unidas unas a otras y algunas a células del citotrofoblasto por desmosomas (MONTGOMERY y -- LALA, 1983). El citotrofoblasto velloso se enrevesa con-- forme avanza el embarazo, pero algunas células citotrofoblásticas comienzan en etapas iniciales de la gesta-- ción a emigrar a lugares extravellosos. Una población - formará columnas intersticiales que se prolongarán dentro de la decidua materna, siendo en parte responsables de la formación de la "coraza citotrofoblástica". Algunas células trofoblásticas van a invadir las arteriolas maternas y quedarán como columnas endovasculares (FAULK y MCINTYRE, 1983). Otras células citotrofoblásticas quedarán como una capa de células periféricas en el corión extraplacentario (corion liso), el cual se fusionará con la membrana amniótica fetal para dar la membrana amniocoriónica que quedará en contacto con la decidua parietal.

Diversas proteinas específicas de placenta presentan capacidad inmunoreguladora: gonadotrofina coriónica humana, lactógeno placentario humano, proteína A plasmática asociada al embarazo y glicoproteina beta-1 asociada al embarazo. De estas y otras proteinas no específicas de la placenta con capacidad inmunoreguladora, como la glicoproteina alfa-2 asociada al embarazo, hablaremos en otro apartado. WEISLOW y col., (1983) han descrito a partir de extractos de placenta murina moléculas con actividad de interferón, pero con características diferentes de los interferones conocidos.

En el trofoblasto se han descrito receptores para moléculas biológicamente activas, tales como IgG, insulina y transferrina. El significado de este último receptor es desconocido, pero por su presencia en la zona más activa entre madre y feto, se le atribuye un importante papel en la biología del embarazo humano. Se han descrito diversas funciones, unas comprobadas y otras no. La primera función en la que se involucró fue el transporte de hierro al feto (FLETCHER y col., 1969), demostrándose que el receptor fija transferrina-hierro (FAULK y GALBRAITH, 1979). Al ser fijada la transferrina por el receptor placentario, la concentración de hierro disponible en los espacios intervellosos disminuirá, lo cual es un factor inespecífico de resistencia frente a determinados microorganismos que necesitan, para proli-

ferar y/o producir toxinas, concentraciones adecuadas de hierro (ANONIMO, 1974).

Otra consecuencia de la fijación de transferrina, es que su propia concentración disminuirá. Habiéndose observado "in vitro" que la ausencia de transferrina frena la transformación linfoblástica inducida por mitógeno o antígenos (MAINOU-FOWLER y BROCK, 1985). Indicando esto que la disminución de transferrina en la interfase materno-fetal, provocaría un bloqueo de la reacción inmune mediada por células maternas (FAULK y JOHSON, 1980).

El último papel inmunológico que se ha descrito para el receptor de transferrina placentario, consiste en una acción análoga al mecanismo utilizado por ciertos invertebrados para evitar la respuesta del huesped. Los Schistosomas, poseen receptores en su superficie que captan proteinas del huesped, camuflando así sus propios antígenos. El receptor para la transferrina es el trofoblasto ("parásito"), puede ejercer un efecto similar por captación de transferrina de la madre ("huesped"), impidiendo que los antígenos del trofoblasto sean reconocidos por el sistema inmune materno (FAULK y JOHSON, 1980).

Aún no se ha podido determinar exactamente el papel inmunológico, si es que tiene, del receptor insulínico en el trofoblasto.

Receptores para la porción Fc de la Ig G son detectados en placenta por diversos métodos. Dichos receptores se han localizado en células endoteliales de los capilares fetales de las vellosidades coriónicas, células de Hofbauer y trofoblasto (FAULK y JOHSON, 1980). Su función es actualmente discutida, pues si bien su papel en el transporte de Ig G materna al feto está aceptado por la mayoría de los autores, su papel en la función inmunoabsorbente de la placenta está en entredicho (RAGHUPATY y col., 1981). Posteriormente profundizaremos en este tema.

La membrana basal trofoblástica (TBM) separa el trofoblasto del estroma velloso de la placenta. Se ha descrito Ig G, C 3 y fibrinógeno unidos a TBM en embarazos normales (FAULK y JOHSON, 1977). La Ig G que se encuentra en TBM está débilmente unida, pudiendo extraerse con lavados del tejido placentario, aunque algunas están fuertemente unidos representando, según algunos autores, anticuerpos anti-TBM (JOHSON y col., 1977).

A parte de C3 ya citado, en TBM se localiza C9, viéndose raramente Clq y C 4 (FAULK y JOHSON, 1977). En suero normal de embarazadas no se ha visto activación significativa del complemento (THOMSON y col., 1976), sugiriendo estos autores una activación del complemento limitada y regulada por la placenta.

En el endotelio de los capilares fetales de las - vellosidades trofoblásticas se ha encontrado C 6 que --- probablemente sea sintetizado o almacenado en estas células. Dado que la transferencia de nutrientes de madre a feto es a través de los vasos de la placenta, el complemento podría intervenir en este proceso. Concretamente el C6 actúa en la vía terminal del complemento induciendo un aumento de la permeabilidad de membrana, por lo que existe la posibilidad de que intervenga en - el mantenimiento de la nutrición fetal (FAULK y JOHSON, 1980).

IV. SIMILITUD ENTRE EMBARAZO Y TRASPLANTE

Desde el momento que el embrión posee antígenos de histocompatibilidad se convierte en un aloinjerto en el tracto reproductor materno. A diferencia de los aloinjertos convencionales el feto va a sobrevivir en íntimo contacto con la circulación materna. No cabe duda que con el estudio de los injertos convencionales comprenderemos mejor el embarazo y viceversa. Comprendiendo los mecanismos de supervivencia fetales podremos aumentar - la supervivencia de otros aloinjertos.

El análisis de la respuesta inmune materna a los antígenos del feto alogénico, revela diferencias signifi

cativas respecto a la respuesta del huesped al aloinjerto convencional (TABLA 2).

1.- La hipertrofia de los gánglios linfáticos donde drena el útero no es constante, dependiendo aparentemente de las cepas usadas.

2.- No más del 30 % de primigestas poseen aloanticuerpos fijadores de complemento. En cambio, análisis en humanos y roedores han demostrado, en suero materno, anticuerpos bloqueantes, siendo capaces estos anticuerpos de interferir con una gran variedad de respuestas antipaternas "in vitro".

3.- Se pueden generar células T citotóxicas sistemáticamente mediante diversas estimulaciones con antígenos paternos, pero el bazo y gánglio linfático donde drena el útero tienen disminuida su capacidad de generar células efectoras antipaternas, existiendo evidencias de la presencia de células supresoras(CHAOUAT y col., 1982).

4.- Finalmente, cuando hembras que han parido son estimuladas con aloinjertos paternos, no solo no muestran una reacción más elevada , sino que incluso, presentan una respuesta disminuida (HEAD, 1982).

Existe una situación clínica de trasplantes que -

TABLA 2

COMPARACION DE LA RESPUESTA DE RECEPTORES DE ALOINJERTOS CONVENCIONALES CON LA RESPUESTA MATERNA AL ALOINJERTO FETAL (HEAD y BILLINGHAM, 1983)

	RESPUESTA DEL RECEPTOR FRENTE ALOINJERTOS CONVENCIONALES	RESPUESTA MATERNA FRENTE AL FETO ALOGENICO
Hipertrofia de los ganglios linfáticos donde drena	+	± (depende cepa)
Anticuerpos citotóxicos y aglutinantes	+	± (<30 %)
Anticuerpos bloqueantes	±	+
Reacción mixto linfocitaria	+	+
Células T citotóxicas	+	-
Generación de células T citotóxicas	+	± (sistémicamente) - (localmente)
Células supresoras	±	+
Aumento de la reacción a un segundo aloinjerto	+	- (hiporespuesta)

apenas presenta diferencias en las pruebas inmunológicas con el embarazo; ésta se trata de receptores de -- trasplante renal con gran supervivencia (más de 10 años) a pesar de tener al menos un haplotipo diferente del donante. Del estudio de este tipo de trasplantados quizás se obtenga información para comprender la inmunología - del embarazo (HEAD y BILLINGHAM, 1983).

V. SIMILITUD ENTRE EMBARAZO Y TUMORES

Con frecuencia se establece un paralelismo entre - células tumorales y trofoblasto, por sus propiedades fisiológicas (FAUVE y col., 1974) y por la capacidad del trofoblasto para invadir la decidua uterina, perforando los vasos sanguineos e incluso emigrando dentro de la circulación materna. Además, algunas proteinas como la - glicoproteina beta-1 asociada al embarazo, gonadotrofina coriónica humana y lactógeno placentario humano, son comunes para el trofoblasto y algunas células tumorales. Sin olvidarnos de la presencia de moléculas típicas tumorales durante la gestación como son la alfa-fetoproteina y el antígeno carcinoembrionario.

También isótipos de proteinas específicas pueden ser comunes a la placenta y determinadas células tumorales, sería el caso de la ferritina y fosfatasa alcali

na (FAULK y JOHSON, 1980).

Determinados antígenos de membrana presentan reacción cruzada en células tumorales y células de placenta (McINTYRE y FAULK, 1980), sugiriendo estos autores que el éxito de la relación huesped-parásito de determinados tumores recuerda al éxito de la relación materno-trofoblástica.

Hace tiempo, PREHN y col., (1972) observaron que en ciertas fases de la oncogénesis, algún tipo de inmunidad anti-tumor facilitaba más que impedía el crecimiento tumoral. Además existen evidencias que sugieren que las células T pueden contribuir de una manera positiva a la formación de colonias de células madre en médula ósea y en la regeneración hepática. Por todo esto algunos autores sugieren que el aloreconocimiento de feto mediante células T maternas (directa o indirectamente) provocaría la liberación de factores de crecimiento o interleuquinas, los cuales, facilitarían el desarrollo de la interfase materno-fetal. De esta manera la célula T vería a las células tumorales igual que a las células trofoblásticas (WEGMANN, 1984).

VI. MECANISMOS PROPUESTOS QUE EVITAN EL RECHAZO

Los distintos mecanismos propuestos pueden clasificarse en tres grandes grupos: 1) Aquellos relacionados con el feto (injerto), 2) Aquellos relacionados con la madre (huesped), y 3) Aquellos relacionados con la unión materno-fetal.

VI.1. MECANISMOS RELACIONADOS CON EL FETO

VI.1.1. NO ANTIGENICIDAD Y/O NO INMUNOGENICIDAD DEL EMBRION

El sistema inmune materno tiene la capacidad de atravesar la barrera mucosa y emigrar al interior de la luz del tracto reproductor, pudiendo de esta manera atacar al blastocito.

¿ Puede la zona pelúcida actuar como una barrera ante el ataque inmune materno ? En ratones se ha observado que la zona pelúcida es permeable a los anticuerpos (SELLENS y JENKINSON, 1975) pero para producir la lisis dependiente de complemento del embrión, es necesario quitar la zona pelúcida (HEYNER y col., 1969). Mientras el papel protector de la zona pelúcida ante el ataque humoral materno puede ser discutido, apenas hay dudas de

que actua como una barrera ante las células maternas inmunológicamente competentes. Sin embargo, al iniciarse la implantación, la zona pelúcida ya se ha perdido quedando el blastocito vulnerable al ataque materno, el cual tendrá un mejor acceso a la zona, pues la barrera mucosa uterina se rompe durante la implantación. Por tanto, la cuestión de la antigenicidad y/o inmunogenicidad de las células externas del embrión preimplantado, las cuales van a entrar en contacto directo con el tracto reproductor materno, es de vital importancia.

Numerosos estudios usando técnicas muy diversas, han investigado en el sistema murino la presencia de antígenos de histocompatibilidad mayores y menores desde la etapa de zigoto hasta la de blastocito preimplantado. En el estadío de mórula se detecta la presencia de antígeno H-2 y no H-2 (KRCO y GOLDBERG, 1977, BILLINGTON y col., 1977). Sin embargo, los resultados obtenidos con blastocitos son contradictorios encontrando resultados positivos y negativos. BILLINGTON y col., (1977) y CARTER (1976) obtienen resultados positivos encontrando que la antigenicidad se perdía después de la activación del blastocito producida por la implantación experimental tardía. PALM y col. (1971) y SELLENS (1977) obtienen resultados negativos, pues no detectan antígenos de histocompatibilidad en el blastocito. La discordancia en estos resultados puede explicarse por diferencias en la -

sensibilidad de las técnicas. El estudio realizado por - LALA y col. (1984), usando anticuerpos monoclonales, demostró la existencia de antígeno H-2 en mórula y al principio del estado de blastocito , y la ausencia de dichos antígenos en blastocitos tardíos, es decir, aquellos muy próximos a la implantación. Explicando estos hallazgos - la falta de inmunogenicidad del concepto semialogénico en la etapa de implantación.

VI.1.2. NO ANTIGENICIDAD Y/O NO INMUNOGENICIDAD DEL AMNIOCORION

En el humano el amnio rodeado por el corión liso componen la membrana fetal, a parte de la placenta, que entra en contacto directo con la decidua materna. Después de la formación de la placenta las dos membranas - quedan fusionadas, denominándose membrana amniocoriónica. La aportación amniótica a esta membrana es el epitelio amniótico, la membrana basal amniótica y tejido conectivo mesenquimal (HAYES, 1975). Diversos autores han encontrado relaciones entre el epitelio amniótico y el -- desarrollo del timo, pero aún no se ha podido establecer el tipo exacto de estas conexiones (FAULK y McINTYRE, 1963).

El epitelio amniótico en el humano no expresa antí-

genos HLA de clase I (HSI y col, 1982), pero células de epitelio amniótico mantenidas en cultivo durante mucho tiempo sí expresan antígenos HLA. Sugiriendo esto, que los genes MHC en estas células fueron desreprimidos. -- Tampoco se han detectado antígenos HLA de clase II en epitelio amniótico (YEH y col., 1983; ADINOLFI y col., 1982).

Células HLA-DR positiva han sido identificadas en el mesenquima amniótico, y aunque su forma irregular y alargada hizo pensar en células accesorias del tipo dendrítico, recientes investigaciones histoquímica e inmunohistológicas han demostrado que son macrófagos "clásicos" (BULMER y JOHSON, 1984). Este hecho unido al hallazgo de leucocitos maternos en la decidua parietalis, convierte al corión liso en una importante barrera que separa células inmunocompetentes genéticamente distintos. No obstante,, BULMER y JOHSON (1985) han identificado leucocitos HLA-DR positivo en el citotrofoblastos del corión liso en ausencia de corioamnionitis clínica. No habiendo determinado si procedían de la madre o el feto. Estos hallazgos nos inducen a creer que la sensibilización materna a antígenos fetales HLA puede ocurrir en parte por las interacciones entre células inmunocompetentes en el corión liso.

El citotrofoblasto de la membrana amniocoriónica

no presenta antígenos de histocompatibilidad (FAULK y - McINTYRE, 1983) ni receptores para transferrina (FAULK y GALBRAITH, 1979). Sí presenta, al igual que las otras células trofoblásticas y el epitelio amniótico, un re-- ceptor intracitoplasmático para el plasminógeno, el cual se involucra actualmente en la rotura prematura de --- membranas (JENKINS y col. 1983).

VI.1.3. ANTIGENICIDAD Y/O NO INMUNOGENICIDAD DE LA PLACENTA

En ratones, el trasplante alogénico de trofoblasto a lugares ectópicos parece no ser inmunogénico, así - como refractario, a ser dañado en animales sensibilizados (HUNT y AVERY, 1976). Estudios"in vitro" que demuestran la inmunogenicidad (PAVIA y col. 1981) o la lisis de células trofoblásticas (SMITH, 1983) por células T - sensibilizadas, están actualmente en revisión, dado que una pequeña contaminación por otras células fetales podría influir de manera determinante en los resultados. La débil inmunogenicidad del trofoblasto ha sido explicada durante años por la ausencia de antígenos de histocompatibilidad en su superficie. Numerosos estudios tanto en ratón como en humanos han afirmado o negado esta hipótesis (revisión LALA y col., 1983).

La distribución anatómica de los antígenos de histocompatibilidad en la placenta fetal es la siguiente: células del citotrofoblasto intersticial y endovascular presentan antígeno de clase I pero no de clase II. Los niveles de antígenos HLA A,B,C en estas células al inicio de la gestación (5-8 semanas) fue del 75 % del observado en la superficie de linfocitos de sangre periférica de adulto. Posteriormente (9-12 semana) desciende el grado de expresión antigénica. En el sincitiotrofoblasto y citotrofoblasto de las vellosidades coriónicas no se han detectado antígenos de clase I y II (MONTGOMERY y LALA, 1983). En las células de Hofbauer y células endoteliales de capilares fetales se han identificado antígenos de clase I (GATTER y col., 1983). (TABLA 3).

La existencia de antígenos de clase II en la placenta está siendo revisada actualmente. La mayoría de los autores no los detectan, pero SUTTON y col.(1983) identificaron células HLA-DR positivas en el estroma de las vellosidades coriónicas. Dichos autores distinguen estas células de las células de Hofbauer, por su forma estrellada, la expresión de antígenos HLA-DR y la ausencia de contenido enzimático. Algunos autores piensan que la fuente de antígenos de clase II más importante de la placenta sería las células endoteliales de los capilares fetales, pero que debido a sus caracteristicas en cultivo, no se detectan (TONGIO y col., 1983). BROCHIER

TABLA 3

DISTRIBUCION DE ANTIGENO DE HISTOCOMPATIBILIDAD EN PLACENTA Y MEMBRANA AMNIOCORIONICA HUMANAS

	Epitelio Amniótico	Mesenquima Amniótico	Citotroblasto Amniocoriónico	Citotrofoblasto Vascular e intersticial.	Sincitio-trofoblasto	Estroma Velloso	Endotelio Fetal
Antisuero frente							
TROFOBLASTO	-	-	+	+ ±	+	-	-
TRANSFERRINA	-	-	-	-	+	-	-
HLA - I	-	+	-	+	-	+	+
B-2-Microglobulina	-	+	-	+	-	+	+
HLA- II	-	?	-	-	-	?	-

y col. (1983) consiguen extraer de placenta anticuerpos anti-DR. Aunque la falta de antígenos de clase II haga a la placenta menos inmunogénica para el inicio del rechazo, la presencia de antígenos de clase I es suficiente para ser diana de las células citotóxicas. Por ejemplo, células tiroideas o β-pancreáticas, que carecen de antígenos HLA clase II, al ser trasplantadas, pueden sobrevivir mucho tiempo en animales no sensibilizados, pero son inmediatamente rechazados en animales sensibilizados. Por ello otros mecanismos adicionales serán necesarios, aparte de la presencia o no de antígenos de clase II.

Las células trofoblásticas expresan dos grupos de antígenos (TA), específicos de especie en su superficie, que se han denominado TA-1 y TA-2 (FAULK y col., 1978). Antisuero anti-TA-1 inhiben selectivamente el cultivo linfocitario mixto (MLC) sin afectar la respuesta inespecífica de los linfocitos a mitógenos. Los propios TA-1 son capaces de bloquear el MLC, habiéndose detectado en sangre materna (O'SULLIVAN y col., 1982). Los TA-1 dan reacciones cruzadas con antígenos en células tumorales (McINTYRE y FAULK, 1980; GOVALLO y EFIMTSEVA, 1985). Antisueros anti-TA-2 son citotóxicos para linfocitos, lo que indica la presencia de antígenos que dan reacción cruzada linfocitos-trofoblasto (TLX). El significado biológico de estos antígenos lo veremos en otro apartado.

Los TA-1 se detectan en el sincitiotrofoblasto y todos los tipos de citotrofoblasto, los TA-2, además de en estos lugares, en las células estromales y endoteliales de las vellosidades coriónicas. Los TA-2 dan reacción cruzada con antígenos presentes en linfocitos (1LX), plaquetas y líquido seminal (FAULK y McINTYRE, 1983).

VI.2. MECANISMOS RELACIONADOS CON LA MADRE

VI.2.1. LOCAL: UTERO COMO LUGAR INMUNOLOGICAMENTE PRIVILEGIADO

MEDAWAR (1953) fue el primero en sugerir esta posibilidad para explicar la tolerancia materna al aloinjerto que representa el feto. Según esta hipótesis, el útero sería como la cámara anterior del ojo o el abazón del hamster, donde la escasez de drenaje linfático condiciona la falta de rechazo de aloinjerto (BILLINGHAM, 1978). De ser así tendríamos que suponer que el motivo por el cual el concepto sobrevive en el interior del útero es un fallo en el componente aferente y/o eferente de la respuesta inmune frente al aloinjerto. En apoyo de esta hipótesis tenemos el hecho de que blastocitos trasplantados a lugares ectópicos en ratonas presensibilizadas son rechazados, mientras que blastocitos transferidos al útero se desarrollan normalmente (KIRBY y -

col., 1966).

BEER y BILLINGHAM (1974) demostraron que la respuesta decidual originada en pseudoembarazo prolonga la supervivencia de aloinjertos de piel en el útero de ratas. Pero la decidualización no es suficiente para evitar el rechazo inmediato de injertos de piel intrauterina en animales presensibilizados. La exposición a antígenos solubles, vía uterina, no provoca una respuesta primaria de anticuerpos aunque sensibiliza al huesped para una respuesta secundaria (BILLINGHAM y HEAD, 1985). Además, si en el útero de ratas no embarazadas colocamos leucocitos, células de ganglios linfáticos o piel alogénica, se produce una hipertrofia de los ganglios linfáticos donde drena el útero, sensibilizándose el huesped para una respuesta secundaria, tanto local como sistémica (BEER y BILLINGHAM, 1974).

Quizás la prueba que demuestre más rotundamente que no es necesario un lugar inmunológicamente privilegiado para el desarrollo del embarazo, sea la existencia de embarazos extrauterinos que llegan a término. Por todo lo dicho anteriormente, hoy día no se considera al útero como lugar inmunológicamente privilegiado.

El útero durante la gestación debe a parte de no rechazar al feto, mantener el ambiente libre de microorganismos, tareas que en principio parecen difíciles de

compaginar. Varios estudios han demostrado la presencia de inmunoglobulina en el útero de animales embarazadas. BERNARD y col. (1977) comprobaron la existencia de Ig G libre y también unida a células del embrión durante la implantación, suponiendo estos autores, que dicha Ig -- tendría un papel importante a la hora de evitar el re-- chazo.

La Ig G uterina tiene afinidad específica por los antígenos HLA fetales (SMITH y col., 1982), aunque es - posible que solo la Ig G 1 (subclase de Ig G en ratón que no fija complemento) entre en contacto con las células - fetales (BELL y BILLINGTON, 1983). Es por esto, que quizás el papel de defensa frente a infecciones en el útero de embarazadas, sea llevado a cabo principalmente por Ig A secretoria. STERN y WIRA (1985) analizaron los niveles de componente secretor (CS) en el útero de ratonas - embarazadas, observando que la producción uterina de CS es baja durante el inicio del embarazo, y que se eleva a niveles semejantes a los de úteros no gestantes en las proximidades del parto. Estos autores interpretaron estos hallazgos desde dos puntos de vista. Primero, los - bajos niveles de SC al inicio de la gestación se acompañan de bajos niveles de Ig A, lo cual facilitaría la tolerancia materna. Segundo, la luz uterina debe protegerse de la invasión de microbios por vía genital inferior. Al inicio del embarazo este papel lo realiza el -

moco cervical, actuando como barrera física. Pero durante el parto esta barrera no existe, siendo necesaria mayor protección. El sistema inmune secretor aporta parte de esta protección incrementando la producción de Ig A, lo que se refleja en el aumento de componente secretor.

VI.2.2. SISTEMICO:

VI.2.2.1. CAMBIOS EN LAS POBLACIONES CELULARES INMUNES

Algunos autores creen que en la base de los cambios inmunes observados durante la gestación, y por tanto de la tolerancia imune materna ante el aloinjerto fetal, se encuentran variaciones en las poblaciones celulares inmunes, aunque discrepan en el mecanismo que los produce (SRIDAMA y col., 1982; VALDERBEEKEN y col., 1982; BULMER y HANCOCK, 1977). Sin embargo, otros autores piensan que dichas variaciones son un reflejo de otros cambios fisiólogicos que se producen durante el embarazo, y que no tienen papel inmune alguno (MOORE y col., 1983; TALLON y col., 1984).

Anteriormente cuando analizamos los cambios que sufrían algunos órganos linfoides durante el embarazo, comentamos las variaciones celulares de dichos órganos. Añadamos nuevos datos analizando las diversas poblacio--

nes de linfocitos T. En los gánglios linfáticos paraaórticos, bazo y sangre de ratonas preñadas, se detectan -- linfocitos $I\text{-}J^+$, lo que no ocurre en ratonas vírgenes. - Siendo este incremento más intenso en embarazos alogénicos (LALA y col., 1983). Probablemente estos linfocitos $I\text{-}J^+$ representan células T supresoras (TANIGUCHI y col., 1980). En bazo de ratonas preñadas, tanto alogénica como singénicamente, observamos un descenso de células $Thy\ 1^+$ $Lyt1^+$ (células T helper/inducer) al inicio de la gesta-- ción que se recupera antes del alumbramiento. Además, -- se aprecia un incremento bifásico en la población $Thy1^+$ $Lyt2^+$ (células T supresoras/citotóxicas), coincidiendo - la segunda elevación con el incremento de células $I\text{-}J^+$, tanto en embarazos alo como singénicos (LALA y col., 1983).

Todos estos hallazgos coinciden con los realizados por CHAOUAT y VOISIN (1981), quienes observaron la pre-- sencia de células supresoras $Ly^+2^+Ia^+$ en bazo de ratonas alogénicamente preñadas. Sin embargo, estas células supresoras se detectan sobre todo en el segundo y posteriores embarazos. SMITH (1981) también describió la aparición - de células T supresoras en ratonas preñadas multíparas, pero dependiendo de la cepa y paridad.

Como decimos, durante el embarazo se produce una - redistribución de células inmunes, debiendo tener en cuenta, en este sentido, a la glándula mamaria. En experimen

tos con ratas se ha comprobado como durante la gestación se produce, a parte de la expansión clonal de las células B ya existentes, una migración de estas células hacia la mama. También, se ha descrito una migración de células T, principalmente T helper, hacia la mama durante la gestación (PARMELY y MANNING, 1983).

En humanos la mayoría de los trabajos se han realizado con sangre periférica, obteniendose resultados contradictorios, Antes de la época de los anticuerpos monoclonales, el porcentaje y número absoluto de linfocitos T periféricos en mujeres embarazadas se había descrito sin cambios (DODSON y col., 1977; BIRKELAND y KRISTOFFERSEN, 1979; GAREWAL y col., 1978), disminuido, (BULMER y HANLOCK, 1977) o aumentado, (CLEMENTS y col., 1976). Estas discrepancias se achacaban a los diferentes métodos usados. Algunos autores no encontraron variaciones en el número total de linfocitos, pero sí un descenso de células T al inicio de la gestación (hasta la 20 semana) con un incremento compensatorio de células B. Esta inversión del cociente T-B se corregía gradualmente después de la 20 semana de gestación (STRELKAUSKAS y col., 1975). VALDIMARSSON y col., (1983) describieron un aumento constante en el número absoluto de neutrófilos durante la gestación, en contraste con el incremento de monocitos que ocurre solo en el primer e inicios del segundo trimestre. También, hallan un descenso en el número total de linfocitos

hasta la 28 semana, iniciándose posteriormente un incremento hasta valores de no embarazadas, los cuales no -- alcanzarán hasta después del parto. Estos autores suponen que las contradicciones encontradas en otros trabajos son debidas a no tener en cuenta las variaciones dependientes de la etapa del embarazo.

A pesar del uso de anticuerpos monoclonales no se ha podido llegar a un acuerdo sobre el comportamiento de las distintas poblaciones celulares durante la gestación. Analizemos primero, en números absolutos, las distintas poblaciones a lo largo del embarazo. BARNETT y col. (1983) encuentran en el primer y segundo trimestre un descenso de células $T3^+$ y $T4^+$. MOORE y col. (1983) hallaron disminuidas en el primer y tercer trimestre las células $T3^+$ y $T4^+$, encontrando además un descenso de -- células $T8^+$ y células Ia^+ en el tercer trimestre. SRIDAMA y col.(1982) comprobaron la existencia de un descenso de células $T4^+$ durante todo el embarazo y de linfo-- citos $T3^+$ sólo durante el segundo y tercer trimestre, además de un descenso de células $M1^+$ en el tercer tri-- mestre, y finalmente TALLON y col. (1984) describieron una disminución de células $T3^+$ y $T4^+$ en el segundo y -- tercer trimestre, además de un incremento de células B en el primer trimestre y un descenso de células $T8^+$ en el tercer trimestre.

Si en vez de hablar en números absolutos de linfocitos, hablamos en porcentajes, los resultados cambian. Así, diversos autores no encuentran variaciones significativas en el porcentaje medio de células $T3^+$, $T4^+$, $T8^+$ o Ia^+ a lo largo de la gestación (LUCIVERO y col., 1983; MOORE y col., 1983; TALLON y col., 1984). No obstante, VANDERBEEKEN y col. (1982) y SRIDAMA y col. (1982) observan un descenso de células $T3^+$ y $T4^+$ en el segundo y tercer trimestre, sin apreciar cambios en las células $T8^+$. SRIDAMA y col. (1982) a parte de estos cambios, describen un descenso de $T4^+$ en el primer trimestre y puerperio, además de un aumento de células Ia^+ en el tercer trimestre y de células $M1^+$ en este trimestre y puerperio. BARNNETT y col. (1983) detectan un déficit proporcional de células $T3^+$ y $T4^+$ sólo en el primer y segundo trimestre. Como vemos, tanto en números absolutos como relativos, existen resultados contradictorios, los cuales intentaremos explicar posteriormente.

VI.2.2.2. INMUNOSUPRESION

Como vimos al analizar la inmunocompetencia materna, la madre se sensibiliza a los antígenos fetoplacentarios, y aunque ella tiene un sistema inmune que puede agredir al feto, esto no ocurre. Por lo que deberá haber un bloqueo del reconocimiento o de etapas efectoras de-

la respuesta inmune. Una explicación para este bloqueo podría ser la presencia de factores reguladores, habiendose descrito sustancias y células inmunoreguladoras -- tanto específicas como inespecíficas, en sangre materna. No sabemos donde actuan la mayoría de estos factores, - si a nivel sistémico y/o a nivel local. Aquí comentaremos aquellos factores tanto humorales como celulares -- que se encuentran en sangre materna y que presentan una capacidad inmunoreguladora.

VI..2.2.2.1. INESPECIFICA

Los trasplantes de piel en hembras y gestantes - son tarde o temprano rechazados, dependiendo de diversas condiciones que ya vimos. Esto nos sugiere que probablemente la mayoría de los factores inespecíficos tengan - su principal lugar de acción a nivel de la interfase materno-fetal, formando lo que algunos autores han denominado "barrera hormonal" (KAYE, 1980).

VI. 2.2.2.1.1. ESTEROIDES

A partir de precursores maternos y fetales, la -- placenta sintetiza estrógenos, los cuales liberará a la circulación materna y fetal, incrementándose sus niveles

conforme avanza el embarazo. Los primeros estudios, no demostraron el efecto inmunosupresor del estradiol en el rechazo de aloinjertos, probablemente porque los niveles de estrógenos a nivel tisular fueron demasiado bajos -- (HULKA y MOHR, 1967). Posteriores trabajos comunicaron como el estradiol prolonga la supervivencia, tanto del primer como del segundo injerto de piel en ratones --- (SIMMONS y col., 1968) e inhibe el rechazo de injertos - corneales en ratones presensibilizados, (WALTMAN y col., 1971). STIMSON Y HUNTER (1976) observaron que al tratar - ratas con 17-β-estradiol aparecían en suero factores ti mo- dependientes. Estos factores entre otras cosas inhiben en linfocitos humanos la formación de rosetas con he matíes de carnero, suprimen la inhibición de la emigra-- ción de leucocitos inducida por antígenos y bloquean parcialmente la transformación linfoblástica inducida por - PHA.

A partir de estos hallazgos se investigó la presencia de receptores esteroideos en timo de rata, encontrandose receptores citoplasmáticos para estrógenos, andrógenos y corticosteroides, no identificádose en timo de rata re-- ceptores específicos para progesterona. Los receptores - para andrógenos y estrógenos se localizan principalmente en la matriz tímica formada por tejido medular. En cambio, los receptores para corticoesteroides se localizan en - médula tímica y timocitos (STIMSON y col., 1980).

Para estudiar el papel funcional de los receptores esteroideos se analizó el efecto de los esteroides en la liberación de factores inmunoreguladores por cultivos de células epiteliales tímicas. Comprobándose que los sobrenadantes de algunos de estos cultivos, dependiendo del tipo y concentración de esteroide, modificaban la respuesta de células inmunes a diversos estímulos (STIMSON y GRILLY, 1981).

El efecto directo de los esteroides sobre los leucocitos dependerá, en parte, de la presencia de receptores. STIMSON (1977) no encontró receptores específicos en leucocitos periféricos para 17-β-estradiol, 5-α-dihidrotestosterona y progesterona, demostrando en cambio la presencia de receptores para glucocorticoides en todos los leucocitos.

Se ha comprobado que existe afinidad de la progesterona y sus esteroides sintéticos por el receptor para los glucocorticoides en los leucocitos, permitiendo esto la actuación directa de la progesterona (STIMSON, 1983).

COHEN y col. (1983) estudiaron la presencia de receptores para esteroides en subpoblaciones de células T periféricas, no detectando receptores para andrógenos y sí en cambio para estrógenos, pero restringidos a células $OKT8^{+}$. La posibilidad de que algunos esteroides induzcan

determinados efectos sobre los leucocitos sin requerir - la presencia de receptores específicos, es digno de te-- ner en cuenta (STIMSON, 1983).

La progesterona es sintetizada y secretada por cé lulas trofoblásticas, por lo que su concentración es mucho mayor en sangre intervellosa que en sangre periférica materna.

Al igual que ocurrió con los estrógenos la proges terona no prolongó la supervivencia de aloinjertos en -- los primeros estudios, debido a la vía de administración y dosis usadas (STIMSON y col., 1968). Posteriores trabajos demostraron que la progesterona o un producto sintético análogo prolongaba la viabilidad de alotrasplantes de corazón en ratas (PETTIROSSI y col., 1976; BEER y BILLINGHAM, 1979).

La inyección intraperitoneal en ratones de un an-- ticuerpo monoclonal anti-progesterona, 32 horas postcoito, impide la implantanción y detiene el desarrollo embrionario en una etapa previa a la cavitación (WANG y col., 1984).

Siguiendo a STITES y SIITERI (1983) podemos sacar las siguientes conclusiones de los múltiples estudios -- realizados "in vitro" con progesterona:

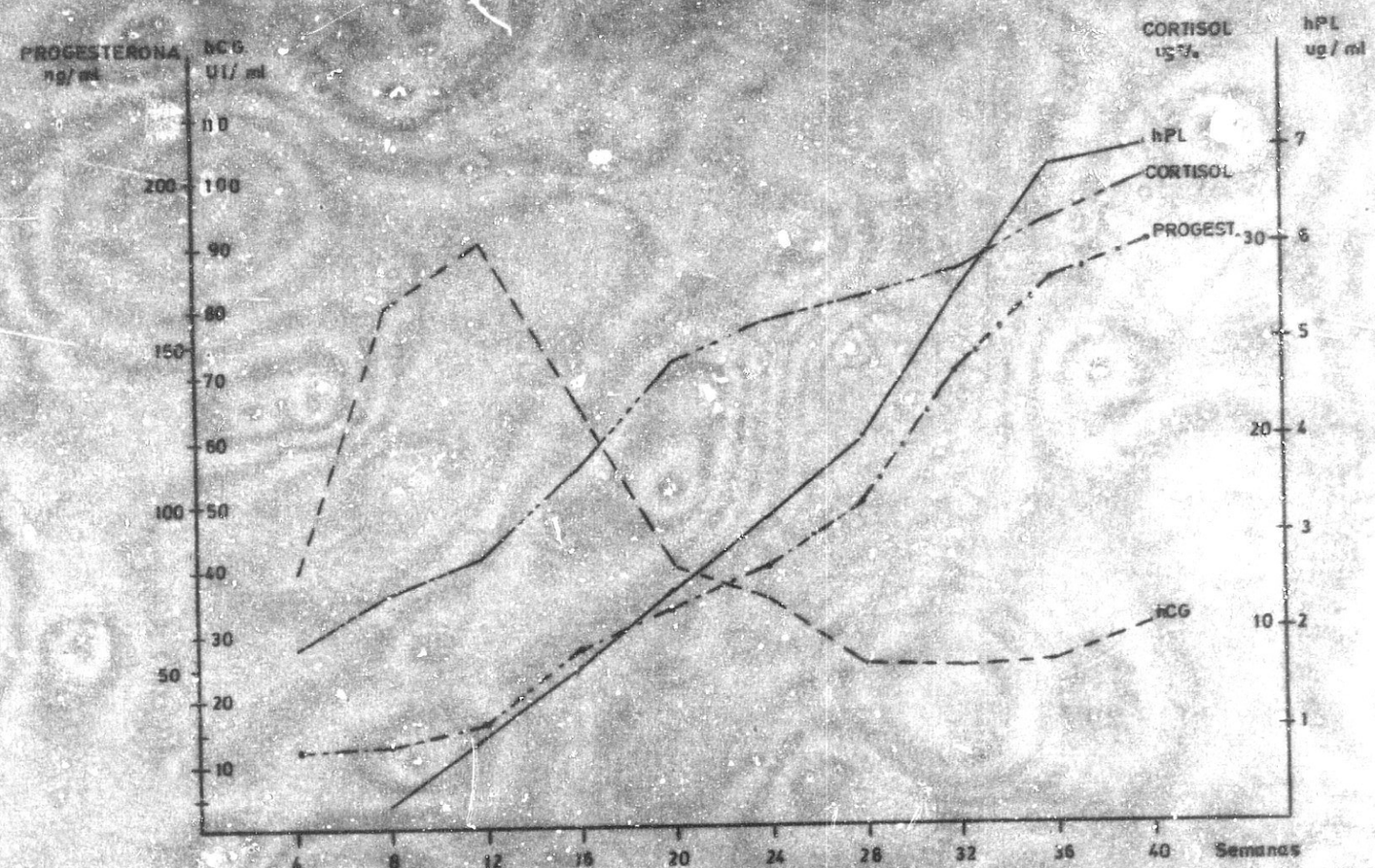
1) Dosis mayores de 20 µg/ml de progesterona son citotóxicas.

2) La concentración necesaria para inhibir la activación de células T excede en varios órdenes la concentración encontrada en plasma humano durante el embarazo (Gráfica A).
3) La supresión ejercida sobre los linfocitos se observa con otras (estradiol) pero no todas (p.e. pregnane-- diol y estriol) las hormanas esteroideas.
4) El mecanismo por el cual la progesterona actúa sobre la citocinética es complejo e involucra a la síntesis de DNA y posiblemente al transporte de membrana.
5) El efecto de la progesterona sobre la activación de - células T parece ser en parte reversible.
6) Los mecanismos por los cuales se produce un descenso de células T no han sido clarificados.

Es interesante analizar detenidamente la acción de la progesterona y otros esteroides sobre la interacción linfocito-monocito. La progesterona actúa en esta interacción principalmente sobre células T, en contraste con - los glucocorticoides que parecen actuar sobre células T y monocitos (STITES y SIITERI, 1983). Linfocitos de mu-- jeres embarazadas normales tratados con progesterona liberan un factor no dializable que inhibe la actividad -- citotóxica y la síntesis de prostaglandinas F_2 (SZEKERES-BARTO y col., 1985).

La progesterona actúa sobre determinadas funciones

GRAFICA A



PROGESTERONA, hCG, CORTISOL, hPL DURANTE EL EMBARAZO (JAFFE, 1986).

del monocito. No se ha encontrado influencias sobre la - captación de partículas de latex, ni en la ingesta de -- bacterias opsonizadas. En cambio, la generación de radicales oxígeno durante la ingestión de zymosan se ve disminuída por la progesterona y otros esteroides. Siendo - éste el ejemplo más evidente de la actuación de los esteroides sin mediación de receptores citoplasmáticos específicos (STIMSON, 1983).

La actuación de la progesterona sobre las células supresoras es convertida. O'HEARN y STITES (1983) observaron como concentraciones de progesterona que inhibían la síntesis de DNA y la generación de linfocitos T citotóxicos, también inhibían la generación o actividad de - células supresoras aloantígeno específicas. Los mismos - autores encontraron este mismo efecto con estradiol (5-10 µg/ml) y cortisol (1 µg/ml). Otros autores han descrito la inhibición con hidrocortisona de células supresoras - inducidas por concanavalina A. Sin embargo, estos autores hallan que la dosis necesaria para inhibir la actividad - supresora es 10 veces más alta que la concentración necesaria para inhibir significativamente la proliferación - de linfocitos (KNAPP y POSCH, 1980; HAYNES y FAUCI, 1980).

RANDAZZO y col. (1980) no solo observaron una relativa resistencia de las células supresoras a la metilprednisolona sino también un incremento de actividad cuando -

eran expuestas a bajas dosis de hormonas esteroideas. De igual manera, HOLDSTOCK y col. (1982) demostraron que la progesterona aumenta la generación de células supresoras inducidas por concanavalina A, no encontrando este efecto con testosterona o estradiol.

Evidentemente los efectos de los esteroides sobre las células linfoides son muy complejos. Diferentes subpoblaciones pueden tener distintos grados de susceptibilidad a diferentes tipos de hormonas esteroideas.

Los niveles plasmáticos de transcortina, cortisol libre y cortisol unido a albúmina y transcortina, aumentan progresivamente durante el embarazo (Gráfica A). El cortisol retrasa el rechazo de aloinjertos en animales (MUNROE, 1971), y los corticosteroides son usados en trasplantes renales humanos. Los corticosteroides tienen efecto citolítico sobre células linfoides de algunas especies (ratón, rata, conejo) pero no de cerdo o primates (CLAMAN, 1972).

Bajas dosis de cortisol pueden mejorar la proliferación de células linfoides, pero concentraciones suficientemente altas inhiben la síntesis de DNA tanto basal como estimulada (MAKMAN y col., 1968; PETRUCCO y col., 1976). Los corticosteroides tienen bastantes efectos sobre macrófagos. Suprimen la respuesta al factor inhibitorio -

de la migración de macrófagos (BALOW y ROSENTHAL, 1973) y disminuyen la actividad fagocítica (SCHREIDER, 1977). En monocito los glucocorticoides impiden la diferenciación de monocito a macrófago (RINEHART y col., 1982). Probablemente los efectos de los corticosteroiedes en aloinjertos y reacciones de hipersensibilidad tardía dependan más de los efectos antiinflamatorios (disminuyen la permeabilidad capilar, aumentan el tono vascular) que de la supresión directa de la función linfoide. El cortisol puede concentrarse en la superficie de la placenta dado que proteinas similares a la transcortina con efecto inmunosupresor se han encontrado en extractos de trofoblasto (WERTHAMER y col.. 1976).

La actuación de las hormonas esteroideas sobre la actividad natural killer es controvertida. El tratamiento con 17-β estradiol induce una marcada reducción de la actividad NK. Usando modelos tumorales en ratones, esta disminución se ha asociado con un incremento en las metástasis pulmonares (HANNA y SCHNEIDER, 1983). Bajo estas mismas condiciones experimentales, se ha encontrado en el bazo de estos ratones una población celular Thy-1 negativa/Ia negativa capaz de suprimir la actividad NK de animales no tratados (MILISAUSKAS y col., 1983). SEAMAN y col. (1978) demostraron en ratones que el 17-β-estradiol disminuía la actividad NK. "In vitro", COX y col.-(1983) observaron con células de ratones como los gluco-

corticoides disminuían la actividad NK por acción directa sobre las células efectoras NK, y no por la generación de células supresoras. No encontrando este efecto con - otras hormonas esteroideas (estradiol, progesterona, testosterona).

En humanos, el tratamiento con hidrocortisona no - produjo variaciones en la actividad NK, ni en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (KATZ y col., 1984). No obstante otros autores si hayan variaciones - (PARRILLO y FAUCI, 1978; ONSRUD y THORSBY, 1981). Debido a esta supuesta influencia hormonal sobre la actividad - NK, algunos autores investigaron las variaciones de la actividad NK durante el ciclo menstrual, encontrando WHITE y col. (1982) una disminución de la actividad NK en - la segunda mitad del ciclo, en contraste con THYSS y col. (1984) que no detectan variación alguna.

Se han descrito modificaciones en las poblaciones - celulares inmunes tras la ingesta de esteroides. NEWPORT y CARTER (1983) no encontraron influencia de las hormonas esteroideas en los cambios linfocitarios observados en los ganglios linfáticos paraaórticos de ratonas gestantes. En humanos la ingesta de caproato 17- α - hidroxiprogesterona durante un año induce un descenso de células - $T8^+$ en sangre periférica, no modificandose las poblaciones $T3^+$ y $T4^+$ (ONSRUD y KVALOY, 1984). En cambio, una ---

única dosis oral de prednisona disminuye las células $T3^+$ y $T4^+$, aumentando o modificando, según los autores, las - células $T8^+$; sin variar las células $OKM1^+$ y $OKIa^+$ (PENDE y col. 1983; SLADE y HEPBURN., 1983). Por último, HENS-- LEIGH y col. (1983) al tratar con betametasona a embarazadas con riesgo de parto prematuro, observaron cómo la - influencia que ejercen los esteroides sobre la respuesta inmune se modifica durante la gestación, hasta el punto - que las infecciones que suelen observarse tras el tratamiento con betametasona en mujeres no gestantes, en embarazadas no se observan.

VI.2.2.2.1.2. ALFA -2- GLICOPROTEINA ASOCIADA AL EMBARAZO (α_2- PAG, PAG, SP3, PAM, PZP)

PAG es una glicoproteina que se encuentra en todos los individuos normales a unas concentraciones entre 0,1 y 130 µg/ml. Los hombres suelen tener menos concentraciones que las mujeres, y los niveles se incrementan - unas 60 veces durante el embarazo y el tratamiento con estrógenos (STIMSON, 1978).

Entre las propiedades inmunosupresoras de la PAG - tenemos la disminución significativa de la proliferación linfocitaria inducida por PHA, Con A, reacción linfocitaria mixta con células alogénicas y PPD (STIMSON, 1976). -

Bloquea también la inhibición de la migración de leucocitos inducida por BCG, reduce la unión espontánea de las células T con los eritrocitos de cordero (STIMSON, 1976) y afecta la movilidad de los macrófagos en el test electroforético (STRAUBE y col., 1975). Sin embargo, los efectos inmunosupresores fueron mucho menores cuando se estimularon selectivamente células B con lipopolisacárido bacteriano (LPS) o suero anti-$F(ab)_2$, indicando esto que PAG inhibe preferentemente la respuesta de las células T --- (STIMSON, 1976). Esto se corresponde con los trabajos que detectan en la superficie del 25 % de células T α_2-PAG, pero no en células B (STIMSON, 1977). No obstante, algunos autores han asociado PAG con células B (HORNE y col., -- (1978).

Aunque la glicoproteina causa una inhibición significativa de la transformación linfoblástica (hasta un 70 %) y de la formación de rosetas por células T (hasta el 25 %), la supresión total rara vez se alcanza. El efecto máximo se alcanzará con aproximadamente 400 µg/ml de PAG, valor por debajo de los existentes en suero durante la gestación (STIMSON, 1976). Es posible que solo un limitado -- número de células tengan la capacidad de fijar PAG y por tanto de ser inhibidas.

Algunos autores han asignado un papel de antagonista de prostaglandinas a la alfa-2- PAG (SAAED y col. 1977). También la alfa-2- PAG se ha identificado en la superficie

de bastantes monocitos sanguíneos de mujeres embarazadas, siendo estas células capaces de sintetizar PAG (STIMSON y col. 1979).

Pocos estudios se han realizado in vivo con PAG, posiblemente por la dificultad que supone obtener grandes cantidades puras. Sin embargo, la administración intravenosa de PAG causa un limitado, pero bastante significativo, incremento de la supervivencia de transplantes de corazones en ratones (SVENDSEN y col, 1978).

VI.2.2.2.1.3. ALFA FETOPROTEINA (AFP, αFP)

La alfa fetoproteina en los mamíferos es una glicoproteína sintetizada principalmente en el hígado, y es un elemento esencial en suero y líquido amniótico durante la vida embrionaria (MURGITA y col., 1983). Algunos autores suponen que su principal función sería proteger a los tejidos fetales de los estrógenos maternos circulantes, pues la AFP es capaz de fijarlos. Sin embargo, esta capacidad sólo la poseen la AFP de determinadas especies (NUÑEZ y col., 1974).

Las propiedades inmunológicas de la AFP fueron demostradas por primera vez en ratones por MURGITA y TOMASI (1975 a). Demostrando estos autores, entre otras propie--

dades, la capacidad de inhibir in vitro la síntesis de -- anticuerpos antihematíes de carnero. La proliferación linfocitaria inducida por mitógenos y aloantígenos también - es suprimida por AFP (MURGITA y TOMASI, 1975 b). La AFP - suprime la síntesis de anticuerpos frente a antígenos T - dependientes (TD), no afectando a antígenos T independientes (TI). La síntesis policlonal de anticuerpos inducida por lipopolisacárido (LPS) tampoco se afecta por la AFP (MURGITA y WIGZELL, 1976). Todas estas propiedades supresoras las realiza la AFP a altas concentraciones, pues -- a bajas actúa de forma inversa. Así, CHARPENTIER y col., (1977) y SOUBIRAN y col. (1979) comprobaron como la AFP a bajas concentraciones aumenta la proliferación linfocitaria inducida por aloantígenos y mitógenos.

Uno de los mecanismos propuestos para explicar las propiedades inmunosupresoras de la AFP es la capacidad de generar células supresoras. MURGITA y col. (1977), observaron que células de bazo murino, precultivadas con AFP - suprimían la síntesis de anticuerpos frente a antígenos - TD, en contraste con las mismas células precultivadas con suero normal que no presentaban propiedades supresoras. - Estas células supresoras inducidas por AFP tienen las siguientes características: 1) inhiben la síntesis de anticuerpos frente antígenos TD y no frente antígenos TI (MURGITA y col., 1983). 2) inhibe la actividad citotóxica mediada por células y la actividad NK (YAMADA y --

HAYAMI, 1983; TODER y col., 1983), 3) son células con los siguientes antígenos de superficie $Thy1^+$ $Lyt1^+2^-$ (MURGITA y col., 1983).

Existe un gran paralelismos entre la desaparición de células T inhibitorias en bazo de ratones neonatos - con el crecimiento y el descenso de los niveles en suero de AFP (MURGITA y col., 1983).

Otros mecanismos propuestos para explicar la capacidad inmunosupresora de la AFP es la posibilidad de que sea capaz de reducir la expresión de antígenos de - histocompatibilidad de clase II en macrófagos. Recordemos que la interacción directa del antígeno con células T en ausencia de macrófagos Ia^+ puede inducir la - generación de células T supresoras antígeno específicas. (ISHIZAKA y ADA, 1976; PIERRE y GERMAIN, 1978).

LU y col. (1979, 1980) y NADLER y col. (1980) demostraron que macrófagos de ratones recién nacidos no - presentaban correctamente el antígeno, asociando este - defecto al escaso número de macrófagos que presentan - antígenos de clase II en su superficie. Recientemente - LU y col. (1984) comprobaron como la AFP inhibía la expresión de antígenos de clase II en los macrófagos. Este efecto presenta las siguientes características: 1) no daña al macrófago pues la fagocitosis no se altera.

2) No está mediado por células T. 3) No se debe a sustancias que transporta la AFP (ácido araquidónico, 17-β-estradiol).

Entre los experimentos más interesantes realizados en vivo con AFP destacan los realizados por GERSHWIN y col. (1978) que demostraron como la administración de AFP a ratones aumenta la susceptibilidad a padecer determinados tumores, como resultado de la actuación de linfocitos T supresores inducidos por AFP.

A la hora de intentar relacionar la mayoría de estos hallazgos con el verdadero papel inmunoregulador de la AFP, no debemos olvidar que la mayoría de estos efectos supresores se han demostrado con concentraciones más altas que las encontradas en suero materno. Recientemente, RODA y col. (1985) han obtenido un factor en suero de embarazada (4S) que inhibe la transformación linfoblástica inducida por PHA. Estos autores al añadir a cultivos de linfocitos este factor supresor (4S) a la concentración mínima que produce inhibición, y AFP a las concentraciones que se encuentran en suero de embarazada. obtienen una potenciación del efecto inhibitorio. Posteriormente veremos más ejemplos de factores que actuan de forma coordinada en la regulación inmune durante el embarazo.

VI.2.2.2.1.4. BETA-1- GLICOPROTEINA ESPECIFICA DE EMBARAZO (PSB_1G, SP1, PAPP-C, TBG)

Glicoproteina sintetizada por el sincitiotrofoblasto que alcanza su máxima concentración en suero (200 µg/ml) al final del embarazo. El único papel inmunológico que se ha estudiado en SP1 es su influencia en la transformación linfoblástica. HORNE y col. (1976) demostraron que SP1 a una concentración de 250 µg/ml inhibía en un 75 % la proliferación inducida por PHA, pero sin afectar la inducida por Con-A. En otro estudio se indicó que SP1 disminuía poco la respuesta a PHA y que este descenso no estaba relacionado con la dosis (CERNI y col., 1977). La SP1 a concentraciones de 120 µg/ml inhibe del 35-99 % la reacción linfocitaria mixta (GULYANSKY y col., 1985).

PETROV y col. (1985) describieron un receptor en la superficie de linfocitos para SP1. El número de células T con receptores para porción Fc de la IgG que portan receptores para SP1 aumenta progresivamente durante la gestación. La capacidad del suero materno de inhibir la transformación linfoblástica al estimular con PHA se correlaciona directamente con los niveles de SP1 (MAJUMDAR y col., 1984).

VI. 2.2.2.1.5. FACTOR PRECOZ DEL EMBARAZO (EPF)

El factor precoz del embarazo se detectó por primera vez en suero de embarazada mediante la técnica de inhibición de rosetas, pues se comprobó cómo el suero de embarazada impedía que linfocitos de no embarazada se unieran a hematíes de carnero (MORTON y col., 1976). Este factor se ha detectado en suero de ratón, humanos y corderos, de 6 a 24 horas después de la fertilización y sólo se encuentra en el primer y segundo trimestres, estando disminuído en casos de aborto (MORTON y col., 1977).

El posible papel inmunoregulador de EPF ha sido estudiado ampliamente por NOONAN y col.(1979) y WHITE y HEAP (1983). No obstante, su existencia ha sido negada por COOPER y AITKEN (1980) quienes no encontraron diferencias entre suero de embarazadas y otros sueros en la capacidad de inhibir la formación de rosetas.

El mecanismos de acción de EPF ha sido estudiado por ROLFE y col. (1985). Estos autores comprobaron que la supresión ejercida por EPF no es directa sino a través de la activación de células supresoras. Estas liberan dos tipos de factores: uno que actúa restringido a la región I del sistema H-2 del ratón, y otro que actúa restringido a un locus fuera de la región H-2. Al administrar EPF a ratonas, éste desaparece de la circulación a los 2-4 días, mientras que los factores supresores se detectan al menos durante 14 días.

VI.2.2.2.1.6. LACTOGENO PLACENTARIO HUMANO (HPL,HCS)

Las propiedades inhibitorias de lactógeno placentario fueron descritas por CONTRACTOR y DAMES (1973), y PETRUCCO y col. (1976) quienes comprobaron que HPL suprime la proliferación linfocítica a concentraciones de 25-50 µg/ml, especialmente después de la preincubación de las células con la proteina. Un posterior estudio demostró que la incubación simultánea de linfocitos hasta con 400 µg/ml de HPL no tiene efecto en la transformación linfoblástica inducida por PHA, pero si las células han sido precultivadas con HPL anteriormente, sí se produce un descenso en la proliferación, alcanzando la máxima inhibición con 200 µg/ml (CERNI y col., 1977).

Las concentraciones necesarias para inhibir un 50 % la reacción linfocitaria mixta oscilan entre 100 y 1000 µg/ml (JOHANNSEN y col., 1976). No obstante MORSE (1976) encontró que después de purificaciones cuidadosas, el HPL suprime la estimulación por PHA y MLR sólo a concentraciones superiores de 1000 µg/ml. Estos resultados sugieren que un contaminante podría haber sido responsable de los efectos inhibitorios observados con HPL. Los valores más altos encontrados en suero de embarazada (7-10 µg/ml) y placenta (200 µg/gr de tejido) son insuficientes para suprimir la respuesta

inmune (Gráfica A).

VI.2.2.2.1.7. GONADOTROFINA CORIONICA HUMANA (hCG)

La gonadotrofina coriónica humana es una glico-- proteina, cuyos niveles se elevan rápidamente en el -- primer trimestre hasta 100 U.I./ml, cayendo posteriormente por debajo de 60 UI/ml (Gráfica A). Los trabajos realizados con hCG sin purificar (chCG) demuestran que menos de 4000 UI/mg prolongan la supervivencia de aloinjertos de piel (PEARSE y KAIMAN, 1967) y disminuyen la reacción injerto contra huesped en ratones (GULYANSKY y FYODORAV, 1985 b; SHALNEV y col., 1985). "In vitro" inhiben la respuesta proliferativa de linfocitos huma-- nos a células alogénicas y PHA (CONTRACTOR y DAVIES, 1973; GULYANSKY y col., 1985 b; SHALNEV y col., 1985). Sin embargo hCG purificada a concentraciones mayores de 12.000 U.I./mg se ha encontrado casi sin actividad (MAES y CLAVERIE, 1977; MORSE y col., 1976). Estos investigadores demostraron que las propiedades inmunosupresoras y hormonales podían separarse cromatográficamente, indicando que el factor activo es otra sustan-- cia distinta de la hCG. STIMSON y col. (1983) han purificado esta sustancia demostrando que es capaz de inhibir la respuesta provocada in vitro por diferentes antígenos y mitógenos (PHA,PWM,Con A, MLR, PPD, LPS), y

de suprimir "in vitro" la síntesis de anticuerpos.

Algunos autores han observado "in vitro" cómo la hCG purificada aumenta la síntesis de DNA en células -- no estimuladas e incluso han propuesto a la hCG como - activador de células B (MORSE y col., 1976; MAES y CLA-VERIE, 1977).

Recientemente se ha obtenido a partir de chCG un factor de crecimiento que es capaz de actuar como mitó geno para linfocitos de sangre periférica. Este factor activa principalmente células $T4^+$ (helper/inducer). Hoy día se investiga su posible función "in vivo" (CARLINO y MORSE, 1985; MORSE y col., 1985).

BARTOCCI y col. (1983) investigaron las propieda des inmunosupresoras "in vivo" de hCG purificada y -- hCG recombinada a partir de subunidades purificadas, - es decir, sin contaminantes. Comprobando que estas hCG inhiben la respuesta de hipersensibilidad tardía de ra tones a hematíes de carnero. Para que estas hCG puedan actuar es necesaria la presencia de las gonadas, ya - que en ratones castrados no se demuestra el efecto -- inmunosupresor de la hCG. Ya vimos las propiedades in-munoreguladoras de progesterona y estrógenos, no de-- biendo olvidar que también se han descrito propiedades inmunosupresoras para la testosterona (DESCHAUX y col., 1980). El mecanismo de acción de hCG es desconocido, - pero quizá tengan un papel clave las prostaglandinas,

pues la indometacina y aspirina son capaces de inhibir la actividad inmunosupresora de hCG (BARTOCCI y col., - 1982).

SHALNEV y col. (1985) han demostrado que hCG disminuye la actividad NK y no modifica la actividad de - células T supresoras. Estos mismos autores comprobaron que la hCG aumenta la capacidad inmunosupresora de los glucocorticoides.

VI.2.2.2.1.8. PROTEINA A PLASMATICA ASOCIADA AL EMBARAZO (PAPP-A).

PAPP-A es una α_2-macroglobulina no caracterizada completamente, sintetizada por el trofoblasto. Los niveles sanguíneos se elevan progresivamente durante - el embarazo, pero principalmente durante el tercer trimestre. La concentración decrece rápidamente después - del parto con una vida media de tres a cuatro días, -- siendo indetectable después de 4-6 semanas. Se ha de-- mostrado la capacidad de PAPP-A de disminuir significativamente la transformación linfoblástica inducida por mitógenos (STIMSON, 1983). Su hallazgo en líquido seminal (BISCHOF y col., 1983), líquido folicular ovárico - (SINOSICH y col., 1984) y en pacientes con enfermedades trofoblásticas (TSAKOK y col., 1983) la ha hecho obje-

to de numerosos estudios (SINOSICH, 1985; GRUDZINSKAS y col., 1985; BISCHOF y col., 1985).

GILL y REPETTI (1979) se propusieron demostrar - si PAPP-A y otras proteinas del suero de embarazadas - (α_2 -PAG, PSβ_1G, AFP, hCG, hPL) tenían algo que ver con la capacidad de suero de embarazadas de inhibir la proliferación celular. Para ello mezclan un número elevado de suero de gestantes, obteniendo así altos niveles de proteinas. Cada proteina fue específicamente eliminada por cromatografía de afinidad por anticuerpos y - el resto del suero se usaba para comprobar su capaci-- dad supresora. A parte de un efecto limitado después - de la absorción de α_2-PAG, la pérdida de las otras proteínas asociadas al embarazo no influyó en la capaci-- dad inhibitoria del suero de embarazada. Por tanto, -- otras sustancias aún no definidas parecen ser las responsables de este fenómeno (FIZET y col., 1983; NICHOLAS y col., 1984). No obstante queda la posibilidad de que alguno de los factores producidos por la placenta - pueda alcanzar altas concentraciones locales que sean - suficientes para actuar como inmunorregulador.

VI. 2.2.2.1.º. PROTEINA PLACENTARIA 15 (PP15)

La PP15, con un peso molecular aproximado de -- 30.000 forma parte del grupo de proteinas solubles -

extraídas de tejido placentario (PP). Esta proteina se encuentra en muy baja concentración en suero materno - (< 1mg/l). PP15 es capaz de inhibir el cultivo linfocitario mixto (BOHN, 1985).

VI. 2.2.2.1.10. INHIBIDOR DE LA SINTESIS DE PROSTAGLANDINAS ASOCIADO AL EMBARAZO (PAPSI).

El suero de embarazada presenta diversas propiedades antiinflamatorias, como por ejemplo, la capacidad de estabilizar los lisosomas de leucocitos aislados, - de modificar la función de los neutrófilos y de suprimir la liberación de enzimas lisosomiales por los ma-- crófagos.

Se ha identificado una proteina del suero asociada al embarazo, PAPSI, la cual es responsable de gran - parte de la actividad antiinflmatoria de suero de embarazada (STIMSON, 1983). PAPSI se ha detectado en orina de embarazada pero está ausente del suero fetal, y del suero y orina de hombres, y mujeres no embarazadas. PAPSI inhibe "in vitro" el paso de ácido araquidónico a prostaglandinas (KUEHL y col., 1977), pero la dosis necesaria para obtener el 50 % de inhibición (ID_{50}) fue mucho mayor que para la indometacina. Sin embargo, "in vivo" - se ha comprobado que ID_{50} para PAPSI es mucho menor --

que para indometacina, mostrándose el PAPSI como un - efectivo inhibidor de la síntesis de prostaglandinas - "in vivo". PAPSI se ha detectado en el citoplasma de células trofoblásticas durante la gestación, excepto a - término (STIMSON, 1983).

VI. 2.2.2.1.11. ANTIGENOS TROFOBLASTICO DE TIPO 1 (TA-1)

Al hablar de los antígenos que presenta el trofoblasto comentamos la propiedad de los sueros anti-TA-1 y de los propios TA-1 (que son glicoproteinas) de inhibir el cultivo linfocitario mixto sin afectar la res--- puesta de los linfocitos a mitógenos (MCINTYRE y FAULK, 1978, 1979 a; FAULK y MCINTYRE, 1983). O'SULLIVAN y col. 1982) demostraron TA-1 en sangre de mujeres embarazadas, incrementándose con el paso de la gestación y alcanzando su concentración máxima al final de ésta. Los TA-1 - desaparecen después de la primera semana postparto.

VI. 2.2.2.1.12. CELULAS SUPRESORAS INESPECIFICAS

Algunos autores han propuesto como causa de la -- depresión de algunos parámetros inmunes durante el embarazo la inducción o activación de células supresoras -- sistémicas (LALA y col., 1983. CHAOUAT y col., 1984; --

VOISIN, 1984). Analizemos ahora las células supresoras inespecíficas sistémicas, para en otro apartado analizar las específicas.

NAKAMURA y col. (1983) obtuvieron células con actividad supresora después de la incubación de células mononucleadas de sangre periférica de individuos normales con un 10 % de suero de embarazada del tercer trimestre. Estas células supresoras fueron capaces de inhibir la reacción linfocitaria mixta solo cuando las células respondedoras eran autólogas, independientemente de las células estimuladoras, e inhibieron también la proliferación de linfocitos autólogos tras la estimulación con Con-A y PWM. Por tanto, estos resultados sugieren la existencia de un factor o factores en suero materno capaces de inducir o activar células supresoras "in vitro". Actualmente se conocen algunas sustancias presentes en suero materno con esta cualidad: AFP (MURGITA y col., 1977; YAMADA y HAYAMI, 1983; TODER y col., 1983; MURGITA y col., 1983), EPF (ROLFE y col., 1985) y algunas hormonas esteroideas (MILISAUSKAS y col., 1983; RANDAZZO y col., 1980; HOLDSTOCK y col., 1982). La mayoría de estas sustancias activan células supresoras inespecíficas.

No sabemos si durante el embarazo se dan estas circunstancias, a parte de que pocos estudios se han

realizado en este sentido. MOHAMMAD y col. --- (1984)detectaron una población de naturaleza no T con - capacidad supresora inespecífica. POLEVA y TRUNOVA (1985) no encontraron diferencias en el índice supresor (mediante la técnica de inducción de células supresoras con con canavalina A) entre gestantes en el primer trimestre y mujeres control. En cambio, sí observaron que el comportamiento de la actividad supresora variaba mucho de una embarazada a otra. Sugiriendo dichos autores que esto - se relacionaría con el curso clínico de la gestación. - FRAJMAN y col. (1983) comprobaron cómo el déficit de - actividad supresora existente en mujeres con lupus eritematoso sistémico se corregía cuando quedaban embarazadas, apareciendo de nuevo en la primera semana postparto.

Las células fetales que pasan a la circulación materna podrían inhibir células inmunes maternas (TOMASI, 1983), así como la deportación de células trofoblásticas, que como veremos posteriormente presentan capacidad inmunosupresora.

VI. 2.2.2.2. ESPECIFICA

VI. 2.2.2.2.1. ANTICUERPOS BLOQUEANTES

Diversos estudios han demostrado la capacidad del suero materno de inhibir inespecíficamente la respuesta

inmune celular a mitógenos (MEHROTA, 1982; YU y col., 1975) y aloantígenos (PAVIA y STITES, 1979; NICHOLAS y col., 1984), la producción de interleuquina 2 (NICHOLAS y col., 1984) y la actividad NK (TODER y col., 1984 b).

También el suero de embarazadas normales provoca una inmunosupresión específica. HELLSTROM y col., --- (1969) demostraron que el suero de ratonas BALB/c preñadas por machos C3H era capaz de bloquear el efecto inhibitorio de linfocitos BALB/c sensibilizados sobre células embrionarias C3H formadoras de colonias. Linfocitos de multíparas sintetizan MIF (Factor inhibidor - del macrófago) al ser estimulados por células paternas o células de recién nacido (ROCKLIN y col., 1973, 1976). Esta respuesta puede ser específicamente bloqueada por un suero materno autólogo pero no por suero de otras - mujeres multíparas (PENCE y col., 1975).

Algo similar ocurre con la reacción linfocitaria mixta (ROBERT y col., 1973; BEER, 1984). Las moléculas responsables de esta supresión específica son inmuno-- globulina, en especial Ig G1 en ratón (BELL y BILLINGTON, 1983). La mayoría de estas inmunoglobulinas no -- fijará complemento, y podemos diferenciar varios gru-- pos.

Los anticuerpos bloqueantes frente a los antígenos de histocompatibilidad del feto despertaron mucho interés cuando se detectaron, y en especial los anticuerpos dirigidos contra los HLA-DR, ya que éstos inhiben la MLR por camuflar los antígenos HLA-DR de las células fetales -- (ALBRECHTSEN y col., 1977).

Estos anticuerpos explican la actividad inhibidora específica del MLR que presenta el suero materno (ROBERT y col., 1973; BEER, 1984).

Sin embargo, anticuerpos bloqueantes definidos por su acción sobre el MLR madre-feto y madre-padre sólo se encuentran en la mitad de los sueros de mujeres que han parido (JONKER y col., 1977). Esta observación es fundamental en el debate actual sobre el verdadero papel de -- estos anticuerpos bloqueantes en el embarazo. Diferentes

autores han publicado trabajos acerca de la ausencia de factores bloqueantes en suero de mujeres con abortos espontáneos de repetición (ROCKLIN y col., 1976; STIMSON - y col., 1979). Sugiriendo algunos que la causa de este defecto es la semejanza entre los antígenos de histo-- compatibilidad de madre y feto. Esto se ha visto corroborado con los estudios que demuestran como mujeres con abortos espontáneos de repetición comparten antígenos - HLA con su pareja más frecuentemente de lo esperado. -- (REZNIKOFF-ETIEVANT y col., 1984; FAULK y McINTYRE, 1985; UNANDER y OLDING, 1983). El grado de compatibilidad varía de un estudio a otro y no es siempre significativo.

Los autores que atribuyen un papel fundamental a los anticuerpos bloqueantes suponen que la ausencia de estos en la mitad de embarazadas es debido a que son -- ligados por un órgano diana, la placenta, por lo que no quedan en suero a la concentración suficiente para ser - detectados (ROCKLIN y col., 1979). Y los autores que no dan importancia a estos anticuerpos dan una sencilla explicación a la ausencia de factores bloqueantes en abortadoras, suponiendo que esta ausencia es la consecuencia, y no la causa, de que el embarazo no llegue a término, - apoyados además por el alto número de embarazadas normales que no los presentan (ANONIMO, 1983).

Sin embargo, a parte de estos anticuerpos bloquean

tes anti-HLA, se han detectado anticuerpos bloqueantes con otras especificidades. SUCIU-FOCA y col. (1983) detectaron en suero de mujeres que han parido anticuerpos frente al idiotipo de anticuerpos y células T que van contra antígenos HLA paterno, posteriormente este hallazgo ha sido confirmado por JAKOBISIAK y col. (1984) y SINGAL y col. (1984). Anticuerpos similares pueden producirse después de transfusiones sanguíneas. Suponiendo algunos autores que estos anticuerpos explicarían por qué aumenta la supervivencia de trasplantes renales en sujetos que han recibido anteriormente transfusiones (SINGAL y col., 1983).

Otro tipo de anticuerpo bloqueante fue sugerido a partir de los experimentos que mostraron como trofoblasto y linfocitos presentan antígenos de superficie comunes (TLX), los cuales presentan diferentes alotipos (McINTYRE y FAULK, 1983). Hetero-antisuero frente a antígenos TLX inhiben la MLR (McINTYRE y FAULK, 1979), por lo que algunos autores postularon que anticuerpos anti-TLX serían sintetizados por la exposición al trofoblasto, y podrían tener "in vivo" la misma función de bloqueo (ANONIMO, 1983; GILL, 1984).

BILLINGTON y col. (1984) han demostrado la presencia de anticuerpos anti-trofoblasto en mujeres primíparas desde la 5ª semana de gestación. Los títulos máxi

mos se alcanzan en estadios iniciales del embarazo, explicando este hecho los autores por la formación de -- complejos antígenos-anticuerpos conforme avanza el embarazo, desapareciendo de esta manera los anticuerpos de la circulación. No obstante, no podemos identificar plenamente los anticuerpos anti-trofoblasto con los teorizados anticuerpos anti-TLX, pues en trofoblasto existen otros antígenos a parte de los citados TLX.

Una cuarta clase de anticuerpos maternos que pueden ser importantes para la supervivencia del aloinjerto fetal han sido descritos por POWER y col. (1983), y - STEWART y col. (1984). Estos anticuerpos no citotóxicos se fijan a células B y se detectan mediante el test de - inhibición de rosetas EA, por su capacidad inhibitoria al unirse al receptor Fc. Aunque los antígenos frente a los que van dirigidos están relacionados con HLA, estudios preliminares sugieren que no son HLA A,B,C o DR. - Antes de concluir diciendo que un nuevo sistema antigénico se ha descubierto, es preciso recordar que se ha - demostrado el bloqueo del receptor Fc con heteroanticuerpos que se fijan a β_2-microglobulina, inmunoglobulinas- de superficie, y antígenos Ia (SARMAY y col., 1979). En otras palabras, que el test de inhibición de rosetas EA puede no ser elmétodo adecuado para definir anticuerpos frente a un único grupo de antígenos.

POWER y col. (1983) demostraron la presencia de - anticuerpos bloqueantes del receptor Fc en 11 de 16 sueros de gestantes normales en el primer trimestre, y la ausencia en 9 de 10 sueros de mujeres que abortaron en - el primer trimestre. Por lo tanto al igual que con otros anticuerpos bloqueantes, es difícil decir que sean esenciales para el desarrollo del embarazo, a pesar de que - sea incuestionable su déficit en mujeres abortadoras. - MACLEOD y col. (1979) demostraron que anticuerpos similares son inducidos por transfusiones sanguíneas, y que se correlacionan con la mayor supervivencia de los trasplantes renales.

VI. 2.2.2.2.2. CELULAS SUPRESORAS ESPECIFICAS

CHAOUAT y col. (1979) demostraron la existencia - de células T en bazo de ratonas multíparas aloembarazadas, que al ser transferidas a un receptor de la cepa - materna disminuían significativamente la capacidad de - rechazar aloinjertos tumorales específicos de la cepa - paterna. Estas células T supresoras fueron capaces de - regular la reacción linfocitaria mixta "in vitro", encontrándose dos poblaciones de células con esa propiedad. Una fue resistente a la mitomicina y activa únicamente - en la fase inductora de MLR y la otra fue sensible a la mitomicina y activa únicamente en la fase proliferativa

(CHAOUAT y VOISIN, 1979; VOISIN, 1983). Los dos tipos - de células supresoras fueron Thy1$^+$ Lyt2,3$^+$, las dos mos traron especificidad y actuaron a través de factores so lubles (CHAOUAT yVOSIN, 1979, 1981, 1983; VOISIN, 1983).

Usando diversas combinaciones de cepas ha sido po sible demostrar "in vitro" la inhibición por células de bazo de animales preñados de la linfolisis mediada por - células. Esta es específica para aloantígeno de la cepa paterna, tiene lugar en la fase de inducción de CTL y - no en la fase efectora, y está mediada por células Thy1$^+$ Lyt2,3$^+$. Células supresoras específicas se hanencontrado en bazo y ganglios linfáticos periféricos (axilares, -- braquiales, inguinales) (CHAOUAT y col., 1983; NAGARKA- TTI y CLARK, 1983; SMITH y POWELL, 1977) y en sangre pe riférica (ENGLEMAN y col., 1978).

Sin embargo, otros autores no han logrado encon-- trar células supresoras de MLR en bazo de ratonas pre-- ñadas alogénicamente (PAVIA y STITES, 1979; GOTTESMAN y STUTMAN, 1980), e incluso otros han descrito células su presoras de MLR en unas cepas, sin encontrarlas en -- otras (SMITH, 1981). Estas discrepancias se explican - por diferencias técnicas (CHAOUAT y col., 1983).

STANKOVA y PLESZCZYNSKI (1984) encuentran a partir de sangre periférica que el cultivo linfocitario mixto -

entre células maternas y recién nacido es significativamente más débil que entre mujeres control y recién nacido. Al quitar de las células maternas las células T con receptores Fc para la IgG (T_γ), desaparecen las diferencias en la respuesta. VANDERBEEKEN y col. (1984) obtienen iguales resultados al quitar las células T_γ y también al quitar las células $T8^+$. Estos hallazgos nos indican que en la circulación periférica materna existen células supresoras antígeno-específico.

El problema que surge a continuación es si estas células supresoras son esenciales para proteger el feto. Si este fuera el caso, cabría esperar algún daño fetal si anulamos este mecanismo mediante la sensibilización materna con aloantígenos paternos. Este experimento fue realizado hace tiempo por MITCHISON (1953) no observando daño alguno en la supervivencia fetal, a pesar de que WEGMANN y col. (1979) han demostrado que dicha sensibilización induce la formación de células citotóxicas anti-paternas. Incluso si trasplantamos un segundo aloinjerto de la cepa paterna en estas hembras aloembarazadas preinmunizadas, se producirá un segundo rechazo, que en ningún caso afectará alfeto (CHAOUAT y col., 1983).

VI. 3. DEPENDIENTES DE LA INTERFASE MATERNO-FETAL

Habiendo analizado en las secciones II.3. y III.3. la estructura de la interfase materno-fetal, y en las secciones VI.1.2. y VI.1.3. su antigenicidad, nos queda por ver los diversos mecanismos que han contado con la interfase para explicar la tolerancia materna.

VI. 3.1. TEORIA DEL FIBRINOIDE

Una mucoproteina sulfatada y rica en ácido siálico, denominada "fibrinoide" se sugirió como protectora del trofoblasto (KIRBY y col., 1964). Dicha protección la ejercería por camuflaje de los determinantes antígenos trofoblásticos o por repulsión electrostática de los linfocitos. Estudios que apoyaban esta teoría tales como el incremento de la inmunogenicidad del trofoblasto tras el tratamiento con neuraminadasa (CURRIE y col., 1968) no han podido ser confirmados por otros autores (SEARLE y col., 1975). Además la capa de fibrinoide no es una capa continua en la placenta hemocorial (LALA y col., 1984).

STEIN-WERBLOWSKY (1981) supuso la existencia de una barrera a nivel de endotelio vascular placentario de alfa-2- macroglobulina. Esta proteina tiene una espe-

cial afinidad por el endotelio vascular. La barrera regularía la permeabilidad vascular: a mayor cantidad de α -2 macroglobulina depositada, menos permeabilidad,-- constituyendo así una barrera física entre leucocitos maternos y fetales. No olvidándonos además del papel - inmunoregulador de la alfa-2-macroglobulina ya comentado. Esta posible capa de alfa-2-macroglobulina no se - ha confirmado actualmente.

VI. 3.2. ANTICUERPOS BLOQUEANTES

Cuando se habló de la inmunidad sistémica específica comentamos los anticuerpos bloqueantes que se hallaban en suero materno. Parte de estos anticuerpos, - principalmente dirigidos contra antígenos HLA, pueden extraerse de la placenta. VOISIN y CHAOUAT (1974) en - ratones, y McCORMICK y col.(1971) en humanos identificaron inmunoglobulinas en la placenta mediante técnicas inmunohistológicas. Posteriormente se extrajeron dichas inmunoglobulinas demostrándose su capacidad inhibidora en la respuesta linfocitaria a mitógenos, antígenos y MLR (FAULK y col., 1974; BONNEAU y col., 1973). Este efecto es inespecífico pues se produce con células - maternas y controles. La Ig G extraída de placenta de ratón se une a timocitos y linfocitos paternos pero no maternos. Al inyectar estas inmunoglobulinas a ratones de la cepa materna disminuye la capacidad de rechazar aloinjertos tumorales de cepa paterna (CHAOUAT y

col., 1979). En embarazos singénicos se ha encontrado mucha menos inmunoglobulina fijada a placenta.

La Ig fijada es principalmente Ig G_1 en ratón (no fija complemento) y en mucha menos cantidad IgG_2, detectándose escasa IgMeIgA.

La inmunoglobulina extraída de placenta presenta diversas especificidades. HANAOKA y TAKEUCHI (1983) encuentran Ig frente antígenos HLA paternos, incluyendo - HLA-D/DR. Pero no debemos olvidar diversas propiedades inespecíficas de la Ig extraídas de placenta, que quizá se expliquen en parte por la presencia de anticuerpos - comunes a todas las embarazadas (KAJINO y col., 1983).

La importancia de estos anticuerpos bloqueantes - "in vivo" es discutida por diversos autores. Por ejemplo, es difícil explicar que los linfocitos B respondan a -- los antígenos paternos sintetizando anticuerpos, y que estos bloqueen a dichos antígenos antes de que interaccionen con células T (LALA y col., 1984). Según FAULK y col., (1974 b) la fijación de Ig G por la placenta puede ser más bien una captación inespecífica que la unión de anticuerpos con antígenos específicos paternos. Se ha - descrito diversos embarazos a término en mujeres agammaglobulinémicas, las cuales no podrían haber sistetizado anticuerpos bloqueantes (KOBAYASHI y col., 1980).

A estos hallazgos debemos añadir los realizados por FAANES y col., (1973) quienes comprobaron que la lísis de células diana por CTL (linfocitos T citotóxicos) sensibilizados, soloera inhibida transitoriamente por el recubrimiento de las células diana con aloanticuerpos. Además THOMAS y SHEVACK (1978) demostraron que los anticuerpos fallaban en inhibir el reconocimiento del antígeno sobre la superficie del macrófago por células T cuando la densidad de antígenos es demasiado baja como para permitir la unión del anticuerpo. Por lo que una baja densidad en trofoblasto permite protección frente anticuerpos citotóxicos pero no frente a células T sensibilizadas.

Algunos autores han sugerido que el mecanismo de actuación de estos anticuerpos no fuera principalmente el camuflaje de antígenos paternos sino que actuarían a través de la formación de inmunocomplejos. "In vitro" la actividad inhibitoria de los inmunocomplejos se ha encontrado en la fase inductora y efectora de la respuesta inmune, y tanto en la respuesta celular como humoral.

Se ha demostrado con linfocitos B (pero imaginable para otro tipo de células) que una interacción del inmunocomplejo solo con el receptor Fc induce una supresión antígeno inespecífica. Si además hay una interac--

ción del determinante antigénico con el receptor específico de la célula, se induce una supresión antígeno específica. A nivel efector se ha descrito un bloqueo por inmunocomplejos de la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos, de la linfocitotoxicidad mediada por células y de las reacciones de hipersensibilidad tardía (revisión en THEOPHILOPOULOS y DIXON, 1979).

VI. 3.3. INMUNOABSORCION DE ANTICUERPOS CITOTOXICOS

Aunque el papel de los anticuerpos citotóxicos se considera actualmente poco importante en el rechazo de aloinjertos, el paso de estos anticuerpos al feto podría ser perjudicial, al igual que el paso de algunos anticuerpos bloqueantes. Desde que se plantearon estos hechos se pensó que la placenta sería la encargada de realizar esta función de inmunoabsorción, aunque hoy día no comprendemos perfectamente cómo la realiza (SINGH y col.,1983).

Cuando se demostró la existencia de receptores para la porción Fc de la IgG en placenta, se pensó que dicha función se realizaría a través de estos receptores. Pero WEGMANN y GILL (1983) comprobaron que estos receptores no eran necesarios para la función inmunoabsorbente de los anticuerpos antipaternos.

También se sugirió que células linfoides fetales podrían emigrar a la placenta durante la gestación proporcionando a ésta su capacidad inmunoabsorbente (SWINBURNE, 1970). SINGH y col. (1983) fetectomizaron ratas preñadas en el 11º día de gestación y estudiaron la capacidad inmunoabsorbente de la placenta. No encontrando diferencias en la cantidad de anticuerpo captado por gramo de placenta, en los día 13, 15 y 17 de gestación. Sugiriendo esto que elementos de la sangre fetal no tienen nada que ver con la capacidad inmunoabsorbente. Sin embargo, debemos tener en cuenta que las células fetales podrían haber emigrado a la placenta antes del día 11 de gestación.

Los anticuerpos anti-HLA paternos se fijarían a los antígenos HLA presentes en placenta (HANAOKA y TAKEUCHI, 1983: TONGIO y col., 1983). Una vez unidos estos anticuerpos a sus antígenos, pueden ser degradados por la placenta o liberados junto con el antígeno a la circulación materna como inmunocomplejos (SINGH y col., 1983). Actualmente, y tras los trabajos de RAGHUPATHY y col. (1984) en ratones, se piensa que ocurre la primera alternativa es decir, el destino de los anticuerpos anti -H-2 que son absorbidos por la placenta es la internalización y posterior digestión en fragmentos. Una parte de los productos de la descomposición puede ser liberada a la circulación materna, habiendo sugerido al

gunos autores, que otra parte de las proteinas degradadas podría utilizarse como fuente de aminoácidos esenciales para el feto (WILD, 1979).

Los diversos macrófagos que se han identificado en placenta podrían servir para eliminar los anticuerpos que han sido desnaturalizados por la placenta (RAGHUPATHY y col., 1984).

El destino de los antígenos H-2 existentes en placenta que se unen a los anticuerpos anti-H-2 es desconocido. Sin embargo, RAGHUPATHY y col., (1981) demostraron que la placenta es capaz de reexpresar sus antígenos H-2 después de haberse unido a ellos anticuerpos anti-H-2.

VI. 3.4. BLOQUEO DE AFERENTES LINFATICOS

BEER y BILLINGHAM (1974) demostraron que injertos de piel alogénica en útero decidualizado de ratas pseudoembarazadas sobrevivían más que injertos realizados en útero no decidualizado. Igualmente injertos situados en la unión decidua-corión en útero de ratas embarazadas normales, prolongan su supervivencia y no estimulan la formación de anticuerpos hemo-aglutinantes (BEER y SIO, 1982). Estos hallazgos se interpretan como el re-

sultado del bloqueo del brazo aferente de la respuesta inmune, posiblemente por la decidua.

El brazo aferente parece permanecer funcional -- durante el embarazo y pseudoembarazo, dado que en ambos casos los injertos de piel son rápidamente rechazados - cuando se realizan en animales sensibilizados específicamente. Sin embargo, la piel es untejido inmunogénico muy potente, y si injertos de tejido débilmente inmunogénicos, principalmente aquellos deficitarios en antígenos de clase II, se comportan de igual manera que la - piel en animales sensibilizados, aún no se ha comprobado.

La explicación más sencilla de bloqueo aferente es que la decidua puede provocar una barrera física en los linfáticos aferentes (KIRBY y COWELL, 1968), pero si esto fuera así sería un mecanismo secundario hasta que la decidualización alcanzara cierto nivel.

Además, en los ganglios linfáticos donde drena el útero se producen diversos cambios que no se producen en otros ganglios linfáticos, indicativos de la mayor -- sensibilización materna (GOTTESMAN y STUTMAN, 1980), aunque no todos los autores los describan (ANDERSON, 1978).

No obstante, a pesar de estos hallazgos no debemos olvidar el particular drenaje linfático uterino. Linfo-

citos marcados situados en la luz uterina no aparecen - en los ganglios linfáticos donde drena el útero, al contrario de lo que ocurre si los situamos en el miometrio (HEAD y col. 1981). La exposición a antígenos solubles por vía uterina no provoca una respuesta primaria de anticuerpos aunque sensibiliza al huesped para una respuesta secundaria (BILLINGHAM y HEAD, 1985).

VI. 3.5. PRESENTACION INEFECTIVA DE ANTIGENOS POR EL -- TROFOBLASTO.

Esta presentación inefectiva puede deberse a diferentes causas:

1) Los antígenos pueden ser tapados o camuflados por distintas sustancias (aparte de los anticuerpos bloqueantes), lo que los haría inaccesibles a las células T. Se han propuesto diversas sustancias para esta tarea: la - transferrina a través del receptor de transferrina detectado en placenta (FAULK y JOHSON, 1977, ver sección III. 3.), la uteroglobulina (MUKHERJEE y col., 1982) y la - gonadotrofina coriónica humana (BEER y BILLINGHAM, 1979). No obstante en el trofoblasto murino los antígenos H-2 - de clase I son accesibles a la unión con anticuerpos -- marcados introducidos en la circulación materna (LALA y col., 1983).

2) La configuración que adoptan los antígenos HLA sobre el trofoblasto permitirían ser reconocidos por células - B y no por células T aloreactivas (CHATTERJEE-HASROUNI y LALA, 1982).

3) Los antígenos se situarían en la membrana celular en zonas inaccesibles a la circulación materna. Siendo esta idea opuesta a los datos de LALA y col. (1983) quienes demuestran que los antígenos HLA del trofoblasto entran en contacto directo con la sangre materna, la cual contiene los mismos niveles de linfocitos T y B que la sangre cardíaca (CHATTERJEE-HASROUNI y col., 1980). Algunos autores han visto diferencias significativas entre los linfocitos existentes en la circulación periférica materna yla circulación sanguínea retroplacentaria (NG y col., 1982).

VI. 3.6. INMUNOREGULACION LOCAL

VI. 3.6.1. CELULAS DE LA INTERFASE

VI. 3.6.1.1. CELULAS DECIDUALES

Al añadir preparaciones purificadas de células deciduales de ratón tratadas con mitomicina C o el sobrenadante de cultivos de estas células a cultivos linfocitarios mixto se inhibe la respuesta proliferativa impidiendo la generación de células T citotóxicas. Este --

efecto no es restringido por el sistema H-2 (complejo - mayor de histocompatibilidad en el ratón) y es necesa-- ria la presencia de células deciduales o sus productos - durante el inicio del MLC (LALA y col., 1984). Similares resultados han sido obtenidos en humanos, comprobándose además que células deciduales suprimen la expresión de - receptores para interleuquina-2 sobre determinados linfocitos.

TODER y col., (1985) han demostrado también, que células deciduales de ratonas pseudopreñadas o preñadas y células deciduales humanas obtenidas de abortos legales son capaces de suprimir el MLC y la respuesta de linfocitos a mitógenos.

Sin embargo, aún queda por resolver si este efecto es específico sobre la respuesta de linfocitos. LALA y - col.(1983) demostraron que células deciduales inhibían significativamente la proliferación de células de linfoma YAC-1, pero menos que la inhibición ejercida sobre el MLC.

La mayoría de estos estudios se han realizado con células deciduales con un 85-90 % de pureza, es por esto que la mayoría de los autores piensan que son necesarios estudios con un 100 % de pureza para aceptar la capacidad supresora de las células deciduales (LALA y col., 1983).

VI. 3.6.1.2. CELULAS LINFOIDES DECIDUALES

Inicialmente se encontró en galnglios linfáticos - donde drena el útero de ratonas aloembarazadas, y posteriormente en decidua uterina, un tipo de célula supresora inespecífica. Estas células son células linfoides que no derivan del timo, que no actúan restringidas por MHC y aparecen en ratonas que sufren su primer embarazo alogénico (SLAPSYS y CLARK, 1982, 1983). Son capaces de suprimir la generación de células T citotóxicas "in vitro" e "in vivo" (CLARK y col., 1983 a), actuando porla liberación de un factor supresor soluble que inhibe la respuesta primaria y secundaria (memoria) de CTL, pero no inhibe la lísis de células diana por CTL activados, ni - la proliferación de células de linfoma YAC-1, ni de células P-815. Este factor inhibe la proliferación dependiente de IL-2 de células H-Y (un clon de células T con actividad NK) y la generación dependiente de IL-2 de -- células citotóxicas efectoras "in vitro" en ausencia de - células estimuladoras alogénicas. En resumen, vemos como este factor actúa bloqueando la respuesta a IL-2 (CLARK y col., 1985).

El hecho de que estas células supresoras sean resistentes a suero anti-celulas T más complemento sugiere la posibilidad de que estas células seancélulas nulas. - CHATTERJEE-HASROUNI y col. (1980) describieron un incre-

mento de células nulas en los ganglios linfáticos donde drena el útero de ratonas alopreñadas, y RODER y col.-- (1977) han descrito células nulas supresoras esplénicas asociadas al envejecimiento con propiedades físicas similares a las células descritas por CLARK y col. (1983 b). Células nulas con actividad supresora se han identificado también en bazo de ratones neonatos y parecen preceder el desarrollo de células T supresoras en neonatos - (RODRIGUEZ y col.,1979).

El papel de estas células linfoides supresoras -- inespecíficas no T "in vivo" se demuestra por el sistema - Mus caroli/Mus musculus. Cuando embriones de M. caroli, una especie asiática de ratón, son transferidos al útero de M. musculus, se desarrollan normalmente hasta el - 9,5 día de gestación. Sin embargo, a partir del 10,5 día el embrión de M. caroli comienza a ser infiltrado por - células T citotóxicas maternas, provocando la muerte y rechazo fetal (CROY y col., 1982). Estos sucesos se asocian con un marcado déficit , previo al rechazo, de células supresoras no T en el lugar de la implantación -- (CLARK y col., 1983 a).

Un defecto similar en la actividad local de células supresora no T se ha descrito antes del rechazo de - feto semialogénico CBA/J x DBA/2J F1 por hembras CBA/J (CLARK y col., 1984).

VI. 3.6.1.3. LEUCOCITOS DECIDUALES

Otras células maternas que han sido propuestas como células supresoras en la interfase-fetal son los diferentes leucocitos encontrados en decidua.

BULMER y SUNDERLAND (1984) describieron linfocitos en decidua humana al inicio del embarazo, al igual que ROSSANT (1984) el cual encuentra células NK y células sensibles a mitógenos de células B. En cambio KABAWAT y col (1985) en humanos detecta escasas células T en decidua, no identificando ni NK ni células B.

Las células NK "in vitro" son capaces de suprimir la diferenciación de células B inducida por PWM, actuando probablemente sobre células T helper (ARAI y col. 1983)). Podríamos esperar una acción similar de estas células en decidua. No obstante SLAPSYS y CLARK (1984) demostraron que las células supresoras de decidua y las células NK representaba dos poblaciones distintas.

Los macrófagos deciduales han sido descritos por diversos autores (BULMER y JOHSON, 1984; KABAWAT y col., 1985; SUTTON y col., 1983) sugirieron algunos que su presencia se relaciona con la supresión local de la respuesta inmune materna (KABAWAT y col., 1985; LALA y col. 1984). HUNT y col. (1984) demostraron que macrófa-

gos procedentes de útero de ratonas preñadas eran capaces de inhibir la respuesta de esplenocitos a PHA, tanto al inicio como al final de la respuesta.

VI. 3.6.1.4. CELULAS TROFOBLASTICAS

BARG y col. (1978) describieron la capacidad supresora del trofoblasto murino al demostrar "in vitro" que era capaz de suprimir la generación de linfocitos T citotóxicos, sin encontrar efecto supresor alguno sobre la síntesis de anticuerpos. El trofoblasto murino es capaz de inhibir la MLR, así como la linfolisis mediada por células (PAVIA y STITES, 1981; VAN VLASSELAER y VANDEPUTTE, 1984). Las células trofoblásticas bloquean directamente la interacción entre CTL, NK y células K, y su diana "in vitro" (CHAOUAT y col., 1983; KOLB y col., 1984). BLANK y col. (1985) han demostrado que células trofoblásticas disminuyen la síntesis de IL-2 por esplenocitos de rata activados con Con-A y reducen la captación de IL-2 por células dependientes de IL-2 (CTL-D).

A la hora de interpretar estos hallazgos debemos tener en cuenta queefectos similares pueden ser producidos por tejidos no trofoblásticos (WOLF y col., 1983). Por ejemplo, tejidos de embrión o decidua de ratonas -- aloembarazadas alogénica, singénica o xenogénicamente -

son tan efectivos como el trofoblasto murino a la hora de bloquear "in vitro" la generación de CTL aloespecífico (CROY, y col., 1983).

VI. 3.6.1.5. LEUCOCITOS TROFOBLASTICOS

Otras células que podrían participar en la inmunoregulación en la interfase maternofetal podrían ser los diferentes leucocitos hallados en el trofoblasto. A parte de las conocidas células de Hofbauer de las vellosidades trofoblásticas, se han descrito macrófagos, células B y granulocitos en el corion liso (BULMER y JOHSON, 1985).

Existen diversos hallazgos que nos ayudan a comprender el posible papel "in vivo" de todas estas células supresoras locales. Así por ejemplo, podría existir una cooperación entre ellas con el objeto de aumentar su capacidad inhibitoria. TODER y col., (1985) al incubar células deciduales con sobrenadantes de cultivo de células trofoblásticas observaron un incremento en la capacidad inhibitoria de las células deciduales sobre MLC y sobre la respuesta de linfocitos a mitógeno.

Aanteriormente comentamos el defecto de células supresoras locales al cruzar diversas cepas de ratones.

CHAOUAT y col. (1985) logran en esos mismos sistemas - embarazos a término previa inmunización de la madre con esplenocitos de determinadas cepas. Estos autores --- comprueban que tras la inmunización y durante la gestación se incrementa la actividad supresora de células de placenta sobre la actividad NK, acompañado de un incremento de anticuerpos anti H-2 paterno del subtipo IgG1 (no fija complemento) que desaparecen del suero durante la gestación. Estos autores suponen que dichos anticuerpos serían fijados por la placenta induciendo una supresión activa local.

En resumen, MOHAMMAD y col.(1984) establecen la - existencia de circuítos inmunoreguladores durante el -- embarazo que dependerían del estado hormonal gestacional, decidua, embrión-trofoblasto y cambios tardíos de embarazo y parto.

La mayoría de estas células supresoras locales -- son inespecíficas, siendo interesante resaltar la opinión de ciertos autores los cuales piensan que una supresión inespecífica local junto con antígenos puede activar una supresión antígeno específica (CLARK y col., 1983). Así células supresoras inespecíficas pueden actuar induciendo células T supresoras activas. Si la supresión inespe

cífica se ha llevado a cabo con medios genéticos naturales (KAPP y col., 1976) o por administración de inmunosupresores(SIMPSON y GOZZO, 1979) también puede generar células T supresoras.

VI. 3.6.2. FACTORES INMUNOREGULADORES DE LA INTERFASE

Muchas de las células supresoras vistas actúan liberando factores a la interfase materno-fetal. Analizemos detalladamente algunas de estas sustancias.

VI. 3.6.2.1. CICLOSPORINA NATURAL DE LA MADRE

Ya comentamos anteriormente como un factor liberado por células linfoides deciduales no T inhibía la respuesta a IL-2, por lo que sus descubridores lo han denominado la "ciclosporina natural de la madre" (CLARK y col. 1985).

El riesgo potencial que la madre contrae por la inhibición de la respuesta a IL-2 es el incremento de la susceptibilidad a infecciones virales en las cuales CTL pueden jugar un papel en la defensa inmune (SETRI y col. 1983). Existen evidencias de que esta susceptibilidad está incrementada en el tracto genital durante el emba-

razo en contraste con otros sitios (YOUNG y GOMEZ, 1979).

Existe también un ejemplo de infección sistémica que está asociado con una supresión sistémica que presenta algunas características comunes con la supresión localizada en el embarazo. La Tripanosomiasis murina se asocia con una supresión sistémica por células nulas $Thyl^-$ y una respuesta disminuída a IL-2 (HAREL-BELLON y col., 1983).

VI. 3.6.2.2. FACTORES TROFOBLASTICOS

Células trofoblásticas son capaces de regular a - células NK, K y CTL (KOLB y col., 1984; CHAOUAT y col., 1983), así como autoprotegerse de anticuerpos citotóxicos mediante factores anticomplemento encontrados en sobrenadantes de cultivos (CHAOUAT, y col., 1984). La vía por la cual se sintetizan estos productos es sensible a tripsina y neuraminidasa, lo cual podría explicar las - observaciones de CURRIE y col. (1968), los cuales observaron tras el tratamiento con neuraminidasa un aumento de la antigenicidad del trofoblasto, según ellos por el desenmascaramiento de antígenos camuflados por fibrinoide.

Estudios de la cinética de su actividad, de las concen-

traciones necesarias para su acción y su vida media -- corta hacen que estos factores tengan un pequeño campo de acción. Lo cual concuerda con animales que abortan - parcialmente (el rechazo de un concepto no compromete - la supervivencia de otros, los cuales se situan en la - cámara uterina adyacente), así como, con las observaciones que demuestran el rechazo de tejido de cepa paterna en el interior del útero de gestantes sin afectarse el trofoblasto.

Actualmente se investiga la relación de estos -- factores con otros inhibidores de la actividad NK y -- ADCC, tales como proteasas (activadores de plasminógeno) los cuales están presentesen la interfase materno-fetal (BURGOS y col., 1982).

Dos características destacan de estos mediadores solubles: la primera es que parecen estar restringidos a su especie. Esta xenorestricción explicaría porqué - clonos K de ratas anti-ratón pueden lisar trofoblasto - murino, mientras CTL murino no pueden hacerlo, esto podría explicar también el fallo del injerto xenogénico (p.e. M. caroli) en el útero de M. musculus (CROY y col., 1982).

La segunda característica es que la actividad inhibitoria de células trofoblásticas sobre NK y CTL pa-

rece bajo control genético, así trofoblasto de CBA/J X DBA/2J (recordemos que suele ser rechazado por hembras CBA/J; CLARK y col., 1984) es menos inhibitorio de la actividad NK que el trofoblasto de combinaciones que no se rechazan (CHAOUAT y col., 1984).

El aislamiento de factores solubles a partir de cultivos de tejido placentario presenta el problema de obtener una población celular purificada, de tal manera que se esté seguro de que dicha población es la sintetizadora de dicho factor (CHAOUAT y col., 1984; CLARK y col., 1984).

VI. 3.6.2.3. PROGESTERONA

Al hablar de inmunosupresión inespecífica sistémica comentamos que probablemente la mayoría de ellos actuarían a nivel de la interfase materno-fetal, formando lo que algunos autores han denominado "barrera hormonal" (KAYE, 1980).

Quizás la progesterona haya sido el factor mejor estudiado, por lo que lo comentaremos más ampliamente, teniendo en cuenta que muchas de las dudas que se plantean a la hora de explicar su mecanismo de acción son aplicables a otros factores.

La progesterona es sintetizada por células trofoblásticas, siendo esencial para el embarazo. Prueba de ello es que si administramos un anticuerpo monoclonal anti-progesterona, 32 horas postcoito a ratonas, no se produce la implantación y se detiene el desarrollo embrionario en una etapa previa a la cavitación (WANG y col., 1984). El tratamiento con progesterona prolonga la supervivencia de injertos (PETTIROSI y col., 1976); BEER y BILLINGHAM, 1979). Sin embargo, las concentraciones de progesterona que prolongan la supervivencia de aloinjertos en ratones son más altas que las encontradas durante el embarazo normal, por lo que la cantidad de progesterona sintetizada por el trofoblasto murino parece insuficiente para explicar la supervivencia del aloinjerto fetal (CLARK y col., 1983 b).

No obstante, existen argumentos para pensar en un papel inmunoregulador "in vivo" de la progesterona. Si a sobrenadantes y cultivos de células trofoblásticas añadimos suero antiprogesterona desaparece la capacidad supresora de èstos (VAN VLASSELAER y VANDEPUTTE, 1984). Esto nos sugiere que las célulastrofoblásticas ejercen su actividad supresora "in vitro" por la liberación de progesterona.

Estas discrepancias en el papel local de la progesterona pueden aclararse parcialmente por diversos -

hallazgos. Unos hacen referencia a los niveles de progesterona, y otros al posible sinergismo de la progesterona con otros factores a la hora de suprimir la respuesta inmune.

Aunque las concentraciones activas de progesterona in vitro (0,5-10 µg/ml) son mucho más altas que los niveles en suero durante el embarazo (6-70 ng/ml), no podemos concluir que aquellas sean concentraciones -- " No fisiológicas " (VAN VLASSELAER y VANDEPUTTE, 1984). Se ha demostrado que la concentración de progesterona - en placenta de rata es mucho más alta (0,1-0,2 µg/g de tejido), e incluso algunos autores han encontrado valores de 0,3-0,5 µg/g tejido en el lugar de la implantación en el día 7,5, y en la placenta en el día 14 de - embarazo en ratonas (VAN VLASSELAER y VANDEPUTTE, 1984). Además, PAVIA y col. (1979) han sugerido que en la superficie del trofoblasto, que forma el límete directo entre el feto y la madre, la concentración es mucho mayor.

La otra explicación posible para solventar las discrepancias en la actuación de la progesterona es el sinergismo con las prostaglandinas. Analizemos primero en líneas generales el efecto inmunoregulador de las prostaglandinas. Elevaciones significativas en la concen-- tración de prostaglandinas se han descrito en el endo-

metrio secretorio normal, en el cual el embrión se --- implanta, comparado con el endometrio proliferativo - (JORDAN y POKOLY, 1977). El papel de este incremento - durante la fase secretoria del ciclo menstrual es desconocido.

Prostaglandinas, principalmente del tipo E (PGE), presentan diversa actividad inmunosupresora"in vitro" e "in vivo".Esta actividad inhibitoria se ha descrito sobre mitogénesis, citólisis, secreción de linfoquinas, síntesis de anticuerpos y rechazo de aloinjertos. La - prostaglandina E inhibe la expresión de antígeno de -- histotompatibilidad de clase II en el macrófago (SNYDER y col., 1982).

Durante la gestación las células deciduales secretan prostaglandinas y quizá también los macrófagos encontrados en la interfase materno-fetal.

Su papel en placenta es desconocido. Sin embargo, la capacidad supresora de cultivo de células de placenta no se modifica por el tratamiento con inhibidores - de la síntesis de prostaglandinas (KOLB y col., 1984). Además, existe en suero de embarazadas un potente inhibidor de la síntesis de prostaglandinas (PAPSI) (STIMSON, 1983), a parte del papel antagonista de la alfa macroglobulina (PAG) (SAED y col., 1977). No obstante,

la capacidad inmunosupresora de la hCG está estrecha-- mente relacionada con las prostaglandinas (BARTOCCI y col., 1982).

El sinergismo al que nos referimos anteriormente de la progesterona y prostaglandinas se ha observado - en la modulación de la respuesta de linfocitos periféricos humanos a mitógenos. FUJISAKI y col. (1985) demostraron que la adición a cultivos de linfocitos estimulados con PHA de 100 ng/ml de PGE o 10 ng/ml de progesterona producía una inhibición de la respuesta proliferativa de solo el 49 % y 13 % respectivamente. En cambio si se añadía a dichos cultivos las dos sustancias a la vez, a esas mismas concentraciones, la inhibición que se producía era del 81 %. Estos autores concluyen afirmando que concentraciones fisiológicas de PGE y progesterona encontradas en el endometrio secretorio normal pueden causar sinérgicamente una adecuada supresión de la respuesta proliferativa de células T a mitógenos.

El mecanismo por el cual esto ocurre es desconocido, no obstante, es interesante recordar que BERENBAUM y col. (1976) encontraron un marcado sinergismo - en la actividad supresora de la mitosis de linfocitos entre PGE y cortisol, y que NEIFELD y TORMEY (1979) demostraron que la inhibición de la progesterona sobre - la respuesta de linfocitos a PHA se ejerce a través de

un mecanismo glucocorticoide-like. A parte de estos resultados debemos añadir los recientemente obtenidos por SZEKERES-BARTO y col.(1985) que al tratar linfocitos de mujeres embarazadas sanas con progesterona encuentran un factor que inhibe la actividad citotóxica y la síntesis de PGF2, observando que linfocitos de mujeres con amenaza de parto prematuro al ser tratadas con progesterona no liberan ese factor.

VI. 3.6.2.4. FACTORES INMUNODESVIADORES

Actualmente se piensa que todo aloinjerto induce dos reacciones, con opuestos resultados, una reacción de rechazo y otra reacción de facilitación. Diversos autores explican la supervivencia del aloinjerto fetal mediante un incremento de la reacción de facilitación. Es decir, que en el sistema inmune materno se produciría una inmunodesviación más que una inmunosupresión (VOISIN, 1983). El balance inmune pasa del predominio de células y anticuerpos citotóxicos (reacción de rechazo) al predominio de células supresoras y anticuerpos reguladores (reacción de facilitación). Esta situación puede ser reproducida, si al introducir un estímulo antigénico en el animal de experimentación, lo acompañamos de extractos de placenta. Veamos más detenidamente este punto.

Al inyectar a ratones células alogénicas junto - con extractos de placenta observaremos : 1) Los anti-- cuerpos que se producen son principalmente IgG1 (no fijadores de complemento), a diferencia con el grupo control, que no ha recibido extracto de placenta, que serán anticuerpos fijadores de complemento (IgM,IgG2). 2) Los linfocitos T sensibilizados son principalmente - supresores, al contrario que en el grupo control que - serán citotóxicos (DUC y col., 1985)."In vitro"se ha - visto que extractos de placenta disminuyen el CML y la generación de linfocitos T citotóxicos, incrementando la generación de células supresoras. Esto último se ha observado también"in vivo"(CHAOUAT y CHAFFAUX, 1984).

A parte de los efectos vistos anteriormente es - interesante resaltar diversos puntos,recordando que todos los trabajos se han hecho con ratones: 1) El origen de las sustancias responsables parece ser el espongiotrofoblasto y/o células gigantes, estas zonas serían - las equivalentes en humanos a citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto, respectivamente (LALA y col., 1984). - El laberinto es inactivo (equivalente al estroma velloso en el humano). La decidua es activa, pero no podemos descartar que sean algunas células gigantes presentes - en ella las que sintetizen estas sustancias (VOISIN, - 1984). 2) Las fracciones solubilizadas de membrana -- presentan la misma actividad pero más intensa (GUPTA y

col., 1983). 3) Se han detectado glicoproteínas con diferentes propiedades inmunomodulatorias (GUPTA y col., 1983). 4) La administración de distintas fracciones de extracto de placenta junto con hematíes de carnero modifica la respuesta de anticuerpos frente a ellos: una fracción de 40-KD es inhibitoria y otra de 60-KD es estimuladora. Ambas modifican, en direcciones diferentes, los isotipos de la respuesta inmune secundaria. La fracción de 40-KD, reduce la respuesta de IgG2 e IgM intensamente, siendo la respuesta principalmente de IgG1.-- En cambio, la fracción de 60-KD disminuye intensamente la respuesta de IgG1, aumentando la respuesta de IgM e IgG2 (BOBE y col., 1984).

VI. 3.6.2.5. OTROS FACTORES

Otros factores encontrados en placenta de ratón son dos sustancias con actividad semejante a la de los interferones (IFN-like). Uno de estos factores tiene - pocos puntos en común con los IFN conocidos hasta ahora. Su función en placenta se desconoce (WEISLOW y col. 1983).

Ya comentamos que las células trofoblásticas presentan dos grupos de antígenos en su superficie que son específicos de especie, que se han denominado TA-1 y -

TA-2 (FAULK y col., 1978). Los TA-1 son capaces de inhibir CML, habiéndose detectado en sangre materna (O'SULLIVAN y col., 1982). A los TA-2 se les ha denominado - TLX, pues antisueros frente a ellos son citotóxicos para linfocitos, lo que indica la presencia de determinan-- tes antigénicos comunes con linfocitos, o que dan reacción cruzada linfocito-trofoblasto.

FAULK y col. (1978) propusieron que la forma de - actuar de dichos antígenos sería atravès de un modelo hapteno-carrier, actuando TA-1 como carrier y TA-2 como hapteno. No se ha comprobado que TA-1 presenten variaciones alotípicas, en cambio, sí se ha visto que los antígenos TLX presentan variaciones alotípicas, habiéndose encontrado hasta tres sistemas aloantigénicos TLX (McINTYRE y col,,1983).

GILL (1984) supone que los antígenos TLX serían - la parte constante de los antígenos de histocompatibilidad de clase I, es decir la parte común a todos estos antígenos. Provocando estos una respuesta supresora, es decir, de anticuerpos bloqueantes y células supresoras. No obstante, esta hipótesis es solo teórica y falta confirmarla con datos experimentados.

Otro antígeno denominado W3/13 encontrado en órganos genitales femeninos, linfocito, trofoblasto y al

gunas células tumorales se ha involucrado también en - la supervivencia fetal (PRESL y BUKOVSKY, 1983).

El hecho de que al cruzar determinadas cepas de ratones aumente la tasa de abortos, nos hace pensar -- en un posible control genético del embarazo (CLARK y - col., 1984; GILL, 1984; NAGARKATTI y CLARK, 1983).

En humanos se ha observado que parejas con abortos espontáneos recurrentes comparten antígenos de histocompatibilidad más frecuentemente que las parejas -- control (BEER y col., 1981), asi como un aumento en -- frecuencia del antígeno DR5/Dw5, tanto en el hombre como en la mujer de parejas abortadoras (GERENCER y col. 1978; REZNIKOFF-ETIEVANT y col., 1984). No habiéndose- demostrado si el gen o genes responsables del aborto - están en la propia región D o se debe a un factor asociado al locus DR (REZNIKOFF-ETIEVANT y col., 1984).

Como vemos la placenta contiene diversos factores inmunoreguladores algunos inmunosupresores, otros - inmunoestimuladores, y también otros inmunodesviadores. Las diferentes sustancias placentarias probablemente - actúen sobre diferentes elementos del sistema inmune, - y en distintas etapas de la reacción inmune.

A lo largo de toda la introducción hemos visto -

cómo los mecanismos que evitan el rechazo fetal por la madre son múltiples, como cabría esperar de un fenómeno tan complejo. No obstante, gran parte de estos mecanismos va a actuar sobre el componente del sistema inmune encargado del rechazo de trasplantes: las células T. También y debido a la similitud que venimos --- apuntando desde el principio entre células trofoblásticas y algunas células tumorales, las células NK van a ser objetivo central de diversos mecanismos que ayudarán a la supervivencia fetal.

OBJETIVOS

Desde el punto de vista inmunológico el feto debe considerarse como un injerto semialogénico en el útero - materno, pues portará un conjunto de antígenos paternos que serán extraños para la madre. A pesar de estos antígenos el feto no es rechazado por el sistema inmune materno.

Este fenómeno de tolerancia materno-fetal no ha - sido explicado adecuadamente, no obstante son muchos -- los mecanismos que parecen contribuir a evitar el rechazo fetal por la madre. En el centro de la mayoría de estos mecanismos se encuentran las células T, aunque su - actuación no está aún bien comprendida.

Por todo esto nos propusimos estudiar a partir de sangre periférica de embarazadas y puérperas la evolución a lo largo del embarazo y puerperio de distintos - parámetros inmunológicos, principalmente relacionados - con las células T. Dicho estudio abarca tanto aspectos - cuantitativos como funcionales.

Así mismo, se ha investigado la influencia de embarazos anteriores sobre las variaciones de parámetros inmunes.

MATERIAL Y METODOS

I.- INSTRUMENTOS Y APARATOS

- Tubo de ensayo de cristal (10 cc).
- Matraces Erlenmayer.
- Bolitas de vidrio.
- Pipetas Pasteur de plástico (lab clinics, España).
- Pipetas Pasteur de un solo uso (Brand, R.F. Alemania).
- Pipetas de vidrio (Branol).
- Pipetas estériles (Nunc).
- Pipetas automáticas, Hamilton (Hamilton Bonaduz AG, - (Suiza).
- Placas de microcultivo de fondo en U (Sterilin, Inglaterra).
- Tubos de poliestireno de 55 x 11 mm ø con fondo redondo (Eurotubo).
- Filtros estériles 0,22 µ de diámetro poro (Millipore, USA).
- Papel de filtro GF/A (Whatman, Inglaterra).
- Autoclave (Hirayama, Japón).
- Cámara estéril por flujo laminar, Gelaire (Floco).
- Centrífuga: Macrotomic (Selecta, España).
- Microscopio óptico de contraste de fase (Zeiss, R.F. Alemania).
- Cámara de recuento microscópico celular, Neubauer --- (Saaringia, R.F. Alemania)
- Estufa Pasteur (Comercial técnica hospitalaria, S.A. España).

- Contenedor de Nitrógeno líquido, D x 55 AT(L'air li-- quide, Francia).
- Balanza de precisión H 15 (Metller, Suiza).
- Incubador de CO_2 (5 %) 3028 (Forma Scientific, USA). Estufa regulada a 37°C con atmósfera humedificada y - al 5 % de CO_2.
- Recolector semiautomático de células, Titerkek (Skatron, USA).
- Contador de radioactividad β.Betamatic (Kontron).
- Peachímetro 601 A/digital (Orion, Research, USA).
- Baño termostátizado (Tronic).
- Agitador Continuo (Atom).

II. REACTIVOS

- PBS Solución salina tamponada con fosfato.

  En 800 ml de agua bidestilada se disuelven:

  - NaCl (Merck, R.F. Alemania) ..... 8,00 gr.
  - K Cl (" ") ..... 0,20 gr.
  - Na_2HPO(" ") ..... 0,15 gr.
  - KH_2PO (" ") ..... 0,20 gr.

  Esta disolución se ajusta ε pH = 7,2 y se completa con agua bidestilada hasta un volúmen de 1000 ml.
- Medio de separación de linfocitos (Linfocoll, España).
- EDTA: En 100 ml de H_2O se disuelve 6 gr. de Titriplex III (Merck, R.F. Alemania).

- PBS-EDTA: En 1000 ml de PBS se disuelven 2,4 gr. de - Titriplex III (Merck, R.F. Alemania).
- Eosina: En 100 ml de PBS se disuelven 3 gr. de Eosina Amarilla (Merck, R.F. Alemania).
- Formaldehido en una disolución del 37 % (Merck, R.F. -- Alemania).
- Líquido de Centelleo:

  En 1000 ml de Toluol (Merck) se disuelve

  PPO (2,5 difeniloxazol)(Merck) ..... 5 gr.

  POPOP(p-bis 2-(5 feniloxazol)- benceno) (Merck).. 0,5 gr.
- Timidina tritiada (^{3}H-T) (Amersham, Inglaterra).

  Concentración radiactiva 1 mCi/ml
- Fitohemaglutinina, PHA (Wellcome, Inglaterra).

  En forma liofilizada se diluyen en PBS estéril a la concentración de 0,5µg/µl congelándose a -20°C.
- Concanavalina A, Con A (Sigma, USA).

  En forma liofilizada se diluye en PBS estéril a la -- concentración de 0,2µg/µl congelándose a -20°C.

- Medio de cultivo:

  A 900 ml de H_2O bidestilada se le añaden:

  - RPMI 1640.
  - Penicilina G sódica (Antibioticos S.A. España) .....100.000 U.I.
  - Gentamicina (Antibióticos S.A.España)..... 0.050 gr.
  - Fungizona Squilb (Flow, U.K.) ..... 0,250 gr.
  - L-Glutamina (Flow. U.K.) ..... 0,300 gr.
  - Bicarbonato sódico (Merck, R.F. Alemania) ..... 2,000 gr.

Esta mezcla trás su agitación se lleva a un volúmen de 1000 ml con agua bidestilada y se ajusta el pH a 7,2. Se congela en alícuotas de 90 ml a -20°C.

Para su utilización en estéril se descongela cada alícuota en baño termostatizado a 37ºC. Se esteriliza - por filtración en filtros Millipore (ø de poro, 0,22 µ). Se añade 10 ml de suero fetal de ternera descomplementada y estéril.

La descomplementación del suero fetal de ternera - se realiza mediante calentamiento durante 30 minutos en baño termostatizado a 56ºC en un ambiente estéril. Se - distribuye en tubos estériles de 10 ml para congelación a -20ºC hasta el momento de uso.

- Suero de conejo normal como fuente de complemento conservado en un contenedor de nitrógeno líquido.
- Anticuerpos monoclonales.

  Las características de los distintos anticuerpos monoclonales usados figuran en la Tabla 4.

  Para cada anticuerpo monoclonal se realizó una curva - de titulación en la cual se relacionaba el porcentaje de citotoxicidad y la concentración de anticuerpo monoclonal, con el objeto de obtener la concentración - adecuada de Anticuerpo monoclonal en el ensayo de citotoxicidad.

TABLA 4

ANTICUERPOS MONOCLONALES USADOS EN EL ESTUDIO DE LAS POBLACIONES DE CELULAS MONONUCLEADAS DE SANGRE PERIFIRICA

ANTICUERPO MONOCLONAL			POBLACION DEFINIDA	DETERMINANTE ANTIGENICO QUE RECONOCE	
TIPO	CASA COMERCIAL	TIPO DE Ig		PESO MOLECULAR DEL ANTIGENO RECONOCIDO	COMENTARIO
OKT3	Ortho Diagnostics Systems	Ig G 2 a	linfocitos T (pan-T)	19.000	Relación con el receptor para el antígenos de la célula T.
OKT4	"	Ig G 2 b	linfocitos T "helper" inductores	60.000	Relacionado con el reconocimiento de antígeno HLA de clase II por la célula T.
OKT8	"	Ig G 2 a	linfocitos T supresores/ citotóxicos; 30 % de LGL	30.000 32.000	Relacionado con el reconocimiento de antígeno HLA de clase I por célula T.
OKM1	"	Ig G 2 b	Monocitos, LGL	170.000	Receptor para C3bi (CR3).
OKIa1	"	Ig G 2	Linfocitos B " T activados Monocitos	29.000 34.000	Determinante antigénico monomórfico de antígenos HLA de clase II.
B 1	Coulter inmunology	Ig G 2 a	Linfocitos B	35.000	---
MO2	" "	Ig M	Monocitos	55.000	---
BMA 070 (VEP 13)	Behring Institute	Ig M	L G L	60 - 70.000	¿ Receptor para Fc de la Ig G (FcR2) ?

Una vez obtenida la concentración adecuada de anticuerpo monoclonal, en un volumen final de 50 µl de medio de cultivo RPMI, se alícuotan estos en tubos de polestireno de 55 x 11 mm ø con fondo redondo, conservandolo a -20ºC.

III.- POBLACION

Se han estudiado 5 grupos de mujeres:

I. Grupo Control: Mujeres no embarazadas (estudiantes - de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada). Ninguna había estado embarazada anteriormente.

II. Gestantes en el primer trimestre de embarazo: oscilando el tiempo trascurrido desde la fecha de la última regla y el día de la extracción de sangre de las 7 semanas a las 12 semanas.

III. Gestantes en el segundo trimestre de embarazo: entre la 14 semana y 25 semana de amenorrea.

IV. Gestantes en el tercer trimestre de embarazo: entre la 27 semana y 40 semana de amenorrea.

V. Puérperas: el tiempo trasncurrido desde el parto y - la extracción de sangre oscila entre 1 día y 1 semana.

La edad de todas las mujeres estaba comprendida - entre los 18 y 30 años.

Todos los individuos estaban sanos y ninguno se - encontraba bajo tratamiento médico.

Tanto los embarazos como los puerperios fueron seguidos y controlados en el Servicio de Obstreticia - y Ginecología del Hospital Clínico San Cecilio (Granada).

Los grupos II, III, IV, V, se subdividieron en 2 subgrupos cada uno: primigestas y segundigestas.

IV.- AISLAMIENTO DE CELULAS MONONUCLEADAS

Se extraen 15 ml de sangre de venas periféricas - de los cuales 5 ml se depositan en un matraz Erlenmayer al cual se le ha añadido 0,1 ml de EDTA al 6%, y el --- resto se deposita en un matraz Erlenmayer estéril que - contiene bolitas de vidrio. Las células que obtengamos - del primer matraz las usaremos para el estudio de poblaciones celulares mediante un ensayo decitotoxicidad dependiente de complemento con anticuerpos monoclonales. Todas las operaciones que realizemos con la sangre del segundo matraz se harán con ambiente y material estéril, - ya que las células que obtengamos serán utilizadas para

el test de transformación linfoblastica y el test de supresión.

A cada matraz se le añade un volumen de PBS igual que el volumen de sangre que contiene, a continuación se procede a separar las células mononucleadas del resto de células sanguíneas, según el método de BOYUM (1968), 5 ml de la mezcla de PBS más sangre venosa se hacen resbalar lentamente sobre la pared de un tubo de ensayo, conteniendo 2,5 ml de medio de separación de linfocitos. Después de centrifugar a 800 g durante 20 minutos, aparece una corona blanca en la interfase del medio y el PBS, formada por linfocitos. Los hematíes, más densos, se depositan en el fondo del tubo. Se extrae la corona con pipetas Pasteur y se lavan las células procedentes del primer matraz, una vez con PBS-EDTA durante 10 m. a 500 g (para evitar posibles agregaciones celulares), y otra con medio de cultivo durante 10 m. a 500 g. Las células procedentes del segundo matraz se lavan dos veces, siendo estos lavados iguales que el segundo realizado a las células obtenidas del primer matraz, es decir, con medio de cultivo durante 10 m. a 500 g.

El sedimento celular obtenido según los métodos anteriores se resuspende en 1 ml de medio de cultivo -- RPMI.

Se agita bien y mediante capilar se toma una muestra, que se lleva a una cámara de contaje Neubauer.

Por la observación al microscopio de contraste de fase podemos observar la viabilidad y hacer el recuento celular.

Finalmente las células procedentes del primer matraz, que las usaremos para el estudio de poblaciones, se ajusta a una concentración 4×10^6 células/ml, y las células obtenidas a partir del segundo matraz se ajustan a 10^6 células/ml.

V.- DETERMINACION DE POBLACIONES CELULARES MEDIANTE UN ESTUDIO DE CITOTOXICIDAD DEPENDIENTE DE COMPLEMENTO CON ANTICUERPOS MONOCLONALES.

Preparados y alicuotados los anticuerpos monoclonales como se indica en el apartado de reactivos, se añade a un tubo del mismo tipo 50 µl de RPMI, a este tubo le denominaremos "tubo control".

Se añaden 50 µl de células (4×10^6 células/ ml) a cada tubo incubándose durante 5 minutos a 37ºC. A continuación 20 µl de suero de conejo como fuente de complemento son añadidos, y se incuba a 37ºC durante 45 minutos.

Transcurrido este tiempo se añade 50 µl de una solución de eosina amarilla al 3 % y 3 minutos después 100 µl de Formaldehido en una solución del 37 %.

Se conservan en una nevera a + 4 ºC hasta proceder al recuento. El número de células vivas y muertas se cuentan en una cámara de contaje Neubauer. Todos los ensayos son hechos por triplicado y al menos son contadas 300 células.

El tubo control nos dará el nivel espontáneo de citotoxicidad, desechando aquellos ensayos que presentaban un nivel superior al 5 %.

VI.- TEST DE TRANSFORMACION LINFOBLASTICA

Para la realización de esta prueba previamente se hizo una curva en la cual relacionamos concentraciones de mitógeno con transformación linfoblástica, obteniendo la concentración óptima de mitógeno para dicho test.

Con pipeta Hamilton se distribuyen 200 µl de células (10^6 células/ml) por pocillo de la placa de microcultivo, añadiendo el mitógeno a una concentración de 4 y 2 µg/ml de PHA y 5 y 1 µg/ml de Con A, dejando otros pocillos libres de mitógeno (pocillos control).

Estos últimos nos darán el nivel espontáneo de

transformación linfoblástica. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Las placas de microcultivos se llevaron a un incubador de CO_2 (5 %) a 37ºC, con atmósfera humedificada, durante 72 horas. A las 48 horas de incubación se añadió 1 µCi/ml de ^{3}H-timidina (1Ci/mM). Transcurridas 24 horas después de la adición de ^{3}H- timidina, se recogió el cultivo en papel Whatman mediante un recolector semiautomático de células. Tras el secado del filtro Whatman, se extraen los círculos que quedan marcados en él y se disponen en viales de centelleo para el contaje. Finalmente añadimos 3,5 ml de líquido de centelleo y su radiactividad es medida en un contador de radiaciones β en desintegraciones por minuto (D.P.M.).

VII.- TEST DE SUPRESION

El test usado en este trabajo para estudiar la actividad de células supresoras fué el descrito por BRESNIHAN y JASIN en 1977.

Dicho test se basa en comparar el ITL obtenido con células mononucleadas de sangre periférica de un determinado individuo al estimular con 1µg/ml de Con A (realizado como en el apartado anterior) y el ITL de las mismas células del mismo individuo y a igual concentra-

ción de concanavalina A pero habiendo estado estas últimas células 24 horas en cultivo antes de añadirle el mitógeno (células preincubadas).

Tanto BRESNIHAN y JASIN (1977) como posteriores trabajos (FEIGHERY y col. 1978; BALAZS y FARID, 1984, obtienen un mayor ITL en las células que han estado 24 horas en cultivo antes de la adición del mitógeno, ya que según estos autores en las 24 horas de incubación sin mitógeno desaparece una población de células supresoras sensibles al cultivo (células supresoras de vida corta).

El tiempo que permanecen las células preincubadas en contacto con el mitógeno es igual que el de las células no preincubadas (72 horas).

Como hemos dicho, durante el periodo de incubación sin mitógeno se pierden células supresoras de vida corta, que aún hoy día no están bien determinadas. (Ver discusión).

La incubación de las células se realiza en un incubador de CO_2 al 5 % con atmósfera humedificada y a 37ºC.

VIII.- EXPRESION DE LOS RESULTADOS

Indice de Transformación linfoblástica (ITL)

$$ITL = \frac{Xe}{Xo}$$

Xe = Media d.p.m. de los pocillos con mitógeno.

Xo = " " " " " control(es el valor de la transformación linfoblástica espontánea).

Indice supresor: (IS)

$$IS = 100 \left(1 - \frac{ITLo}{ITL_{24}}\right)$$

ITLo : Indice de transformación linfoblástica de - células estimuladas a las 0 horas.

ITL_{24}: Indice de transformación linfoblástica de - células estimuladas a las 24 horas.

IX.- METODOS ESTADISTICOS

IX.1. CALCULO DE LOS VALORES MEDIOS Y SU DESVIACION STANDAR.

Para el cálculo de las medias utilizamos la expresión:

$$x = \frac{\sum_{i=1}^{n} x_i}{n}$$

siendo $\sum_{i=1}^{n} x_i$ = la suma de todos los valores encontrados,

donde n = número de casos observados.

El cálculo de la desviación estandar se realiza -- mediante la fórmula:

$$D.S. = \sqrt{\frac{1}{n-1}\left(\sum_{i=1}^{n} x_i^2 - \frac{\left(\sum_{i=1}^{n} x_i\right)^2}{n}\right)}$$

siendo $\sum_{i=1}^{n} x_i^2$ la suma de los cuadrados de los valo-- res encontrados.

IX.2. ANALISIS DE LA VARIANZA DE UNA VIA

Lo utilizamos para analizar si "r" muestras procede de "r" poblaciones con igual media o no; en nuestro estudio para ver si los distintos grupos tienen igual media, usamos el modelo I de tratamientos fijos.

Las cuatro hipótesis que deben verificarse para -- que la técnica del análisis de la varianza de una vía - sea aplicable, son:

a) muestras aleatorias: se comprueba por eltest de las rachas

b) independientes

c) que sean r muestras obtenidas de r poblaciones normales; se comprueba con el test de D'Agostino.

d) y varianzas iguales: se comprueba con el test de Bartlett.

Cuando el test de análisis de la varianza de una - vía de significativo, se analizan las diferencias entre las medias de cada muestra. En nuestro estudio nos interesa hacer todas las comparaciones frente al grupo control, por lo que cuando tengamos tamaños de muestras -- iguales aplicaremos el método de Dunnett (esto será cuando comparemos cada trimestre de gestación y puerperio - con el grupo control, sin tener en cuenta si las mujeres son primigestas o segundigestas) y cuando tengamos tamaños de muestras distintos aplicaremos el método de Bonferroni (esto será cuando comparemos cada trimestre y - puerperio, divididos en primigestas y segundigestas, con el grupo control).

El método de Dunnett se utilizó para confeccionar las tablas I,IV,VII,X,XIV,XVII,XX,XXIII,XXVI,XXX,XXXIII, XXXVI,XXXIX,XLII,XLV,XLVIII.

El método de Bonferroni se utiliza para realizar las tablas II,V,VIII,XI,XV,XVIII,XXI,XXIV,XXVII,XXXI,-- XXXIV,XXXVII,XL,XLIII,XLVI, IL.

Con los dos métodos se utilizó el método secuen-- cial de Newman y Keuls.

Para comparar el grupo control con el grupo global de embarazadas realizamos un contraste "a priori" mediante el método de Student. De esta manera se confeccionaron las tablas XIII,XXIX,LI.

IX.3. ANALISIS DE LA VARIANZA DE DOS VIAS CON VARIOS -- ELEMENTOS POR CASILLA

Utilizamos el modelo I: filas y columnas de efectos fijos. Las condiciones de validez de este test, de maneraresumida son:

a) Los valores de cada casilla deben seguir una distribución normal: se comprueba mediante el test de D'Agostino.
b) Homogeneidad de las varianzas de todas las casillas: se estudia mediante el test de Bartlett.

Las tablas realizadas mediante esta técnica son: III,VI,IX,XII,XVI,XIX,XXII,XXV,XXVIII,XXXII,XXXV,XXXVIII, XLI,XLIV,XLVII,L.

La tabla de análisis de la varianza de dos vías comenzamos a analizarla por la interacción. Si esta no es significativa, ni tiene síntomas de significación, los test para filas y columnas son válidos.

El test para filas nos dirá si el parámetro estu-- diado se comporta de manera diferente en primigestas que en segundigestas.

El test para columnas nos indica el comportamiento del parámetro estudiado a lo largo del embarazo, en este test no profundizaremos cuando de significativo, pues la evolución del parámetro a lo largo del embarazo sólo - nos interesa respecto al grupo control, y eso ya lo estudiamos mediante el análisis de la varianza de una vía.

Los datos que utilizamos para construir las tablas analizadas por el método de Bonferroni, exceptuando los datos del grupo control, pues en este no hay ni primi-- gestas ni segundigestas, son los que utilizaremos para - construir las tablas de análisis de la varianza de dos - vias con varios elementos por casilla.

RESULTADOS

ABREVIATURAS DE LAS TABLAS

n	:	número de mujeres estudiadas.
D.S.	:	desviación estandar.
§	:	t exp: comparación con el grupo control.
*	:	$p < 0,05$.
**	:	$p < 0,01$.
***	:	$p < 0,005$.
****	:	$p < 0,001$.
C	:	grupo control.
1T	:	grupo del primer trimestre de gestación.
2T	:	grupo del segundo trimestre de gestación.
3T	:	grupo del tercer trimestre de gestación.
PUER	:	grupo de puérperas.
$n^{\cdot}$	:	corresponden 25 mujeres a cada trimestre y puerperio.
$n^{\cdot\cdot}$	:	" 12 " " " "
$n^{\cdot\cdot\cdot}$	:	" 8 " " " "
$n^{\cdot\cdot\cdot\cdot}$	:	" 7 " " " "
#	:	media $\pm$ desviación estandar.
D.P.M.	:	desintegración por minuto.
g.l.	:	grados de libertad.
s.c.	:	suma de cuadrados.
m.c.	:	media cuadrática.
N.S.	:	No significativo.

ABREVIATURAS DE LAS GRAFICAS

Barras : desviación estandar(excepto gráfica 9 error estandar)

p* : comparación con el grupo control.

N.S. : No significativo

C : grupo control.

1T : grupo del primer trimestre de gestación.

2T : grupo del segundo trimestre de gestación.

3T : grupo del tercer trimestre de gestación.

PUER : grupo de puérperas.

D.P.M. : desintegraciones por minuto.

: primigestas

: segundigestas

PORCENTAJE MEDIO DE CELULAS MONONUCLEADAS OKT3$^+$ EN SANGRE PERIFERICA DURANTE EL EMBARAZO Y PUERPERIO.

El porcentaje medio de células mononucleadas OKT3$^+$ en sangre periférica se encuentra disminuído en mujeres gestantes respecto a mujeres no embarazadas del grupo - control ($p < 0,001$) (Tabla XIII-A, Gráfica 1).

Al estudiar la evolución del porcentaje de células OKT3$^+$ en la gestación y puerperio observamos que el mencionado descenso se inicia en el primer trimestre ($p < 0,01$) y continúa en el segundo ($p < 0,01$). Durante el - tercer trimestre se produce una elevación de la proporción de células OKT3$^+$ alcanzando valores similares a -- los del grupo control. Esta normalización del porcentaje de células OKT3$^+$ se mantiene durante el puerperio -- (Tabla I, Gráfica 2).

Al dividir el grupo total de embarazadas y puér-- peras en primigestas y segundigestas, ambos subgrupos - presentan variaciones equivalentes a las del grupo to-- tal (Tabla II, Gráfica 3).

El haber estado embarazada anteriormente (ser primigesta o segundigesta) no influye en el porcentaje medio de células OKT3$^+$. Además, las variaciones que se en

cuentran en este porcentaje a lo largo del embarazo y - puerperio, son independientes de ser primigesta o segun digesta. (Tabla III).

TABLA I

EVOLUCION DEL PORCENTAJE MEDIO DE CELULAS MONONUCLEADAS OKT3^{+} EN SANGRE PERIFERICA DURANTE LA GESTACION Y PUERPERIO

GRUPO	n	MEDIA (%)	D.S.	t exp §
CONTROL	50	69,80	9,80	---
1º TRIMESTRE	50	60,56	10,05	4,66 **
2º "	50	60,66	10,67	4,61 **
3º "	50	69,74	10,44	0,03
PUERPERAS	50	71,50	8,38	0,86

Ver abreviaturas de Tablas.

TABLA II

EVOLUCION DEL PORCENTAJE MEDIO DE CELULAS MONONUCLEADAS $OKT3^+$ EN SANGRE PERIFERICA DURANTE LA GESTACION Y PUERPERIO EN PRIMIGESTAS Y SEGUNDIGESTAS

CONTROL	MEDIA ± DS DE CELULAS $OKT3^+$ (%)			
n = 50				
69,80 ± 9,80	1T	2T	3T	PUER.
PRIMIGESTA	60,32 ± 10,12	58,16 ± 9,43	69,68 ± 10,03	71,92 ± 8,23
n° = 100	§ 3,91 **	4,80 **	0,05	0,87
SEGUNDIGESTAS	60,80 ± 10,19	63,16 ± 11,42	69,80 ± 11,04	71,08 ± 8,67
n° = 100	3,71 **	2,73 *	0,00	0,53

Ver abreviaturas de Tablas.

TABLA III

DATOS DE LA TABLA II TRATADOS COMO UN ANALISIS DE LA VARIANZA DE DOS VIAS CON VARIOS ELEMENTOS POR CASILLA

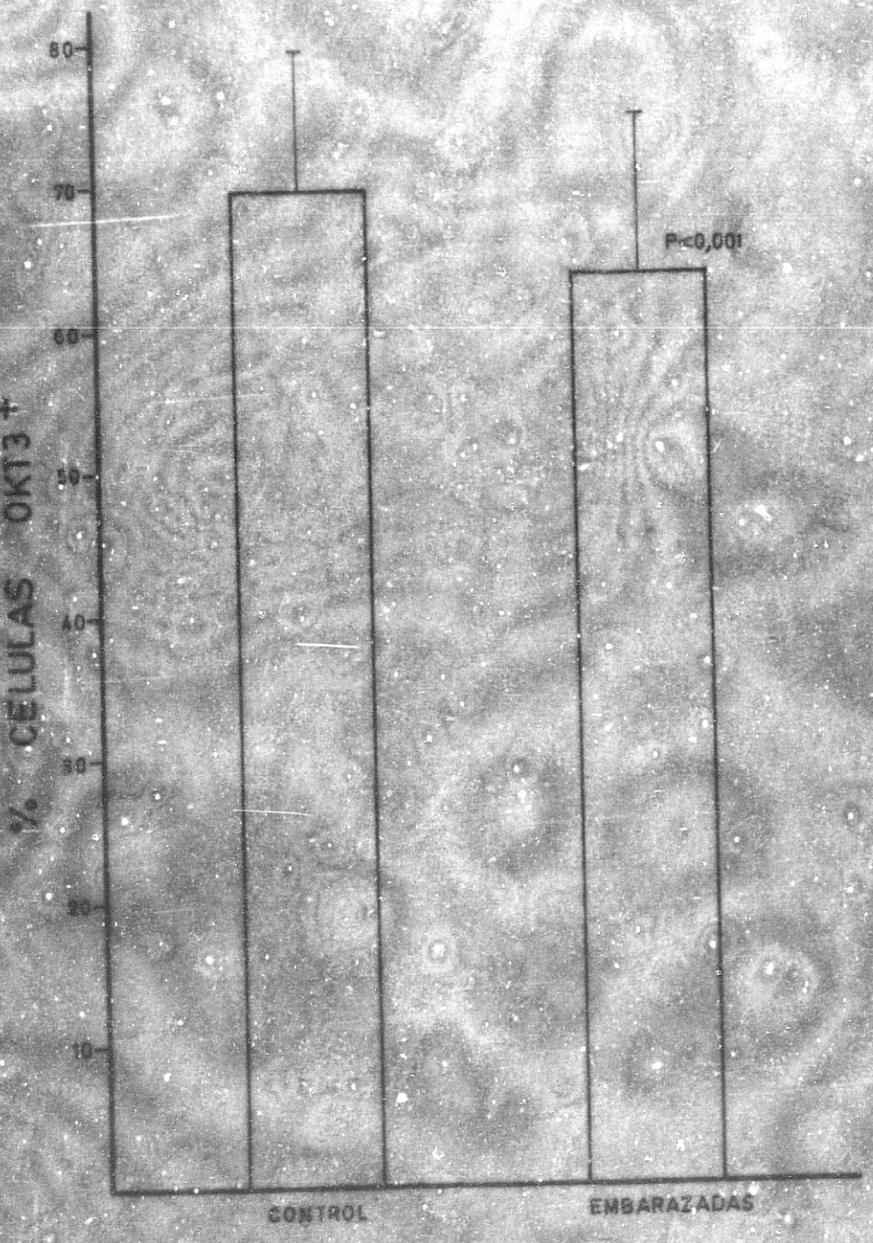
Fuente	g.l.	s.c.	m.c.	F exp.	Significación
Entre filas(embarazos anteriores)	1	70,8	70,8	0,72	N.S.
Entre columnas (período gestación)	3	5087,7	1695,9	17,15	0,1 %
Interacción	3	253,6	84,5	0,85	N.S.
Dentro	192	18986,3	98,9	---	

(Ver abreviaturas de tablas).

GRAFICA 1: Porcentaje medio de células monocucleadas $OKT3^+$ en sangre periférica del grupo control y embarazadas.

(Ver abreviaturas de Gráficas).

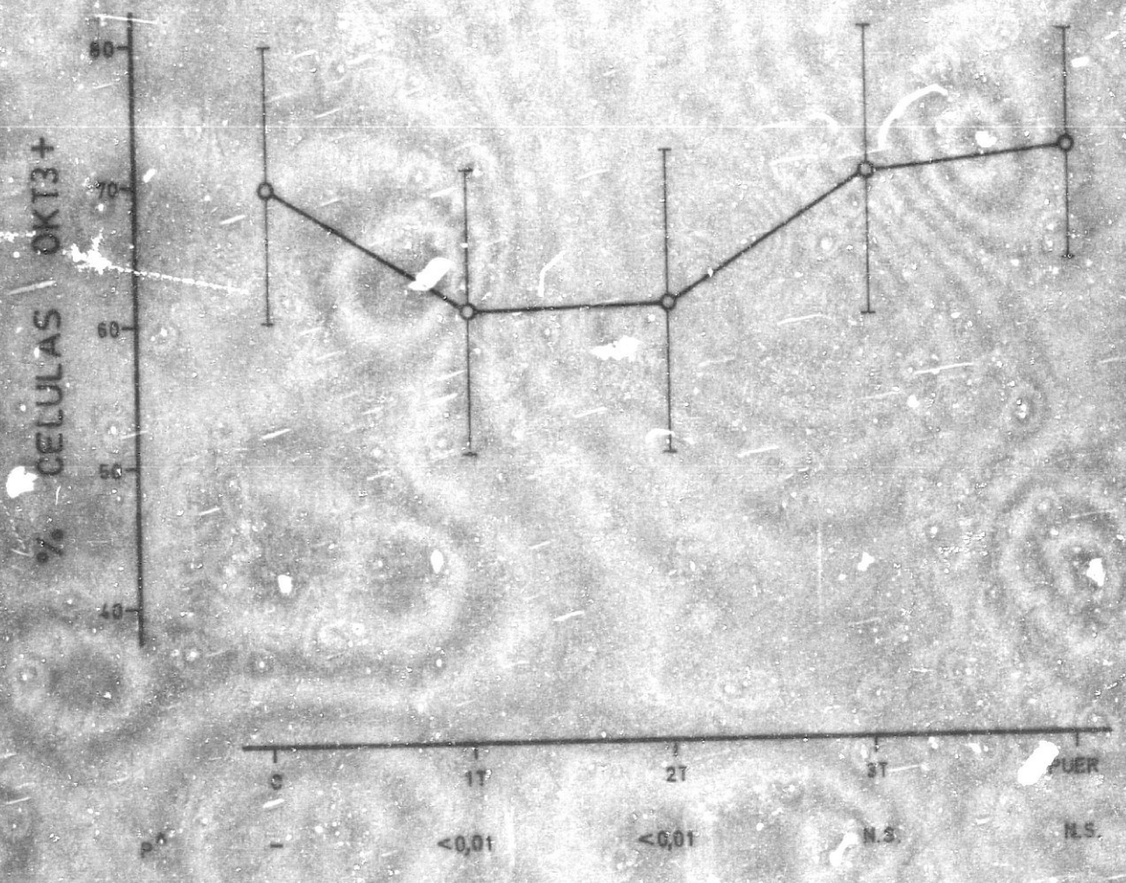
GRAFICA 1


80
70
60
50
40
30
20
10
% CELULAS OKT3 +
P<0,001
CONTROL
EMBARAZADAS

GRAFICA 2: Evolución del porcentaje medio de células mononucleadas OKT3^{+} en sangre periférica durante el embarazo y puerperio.

(Ver abreviaturas de Gráficas).

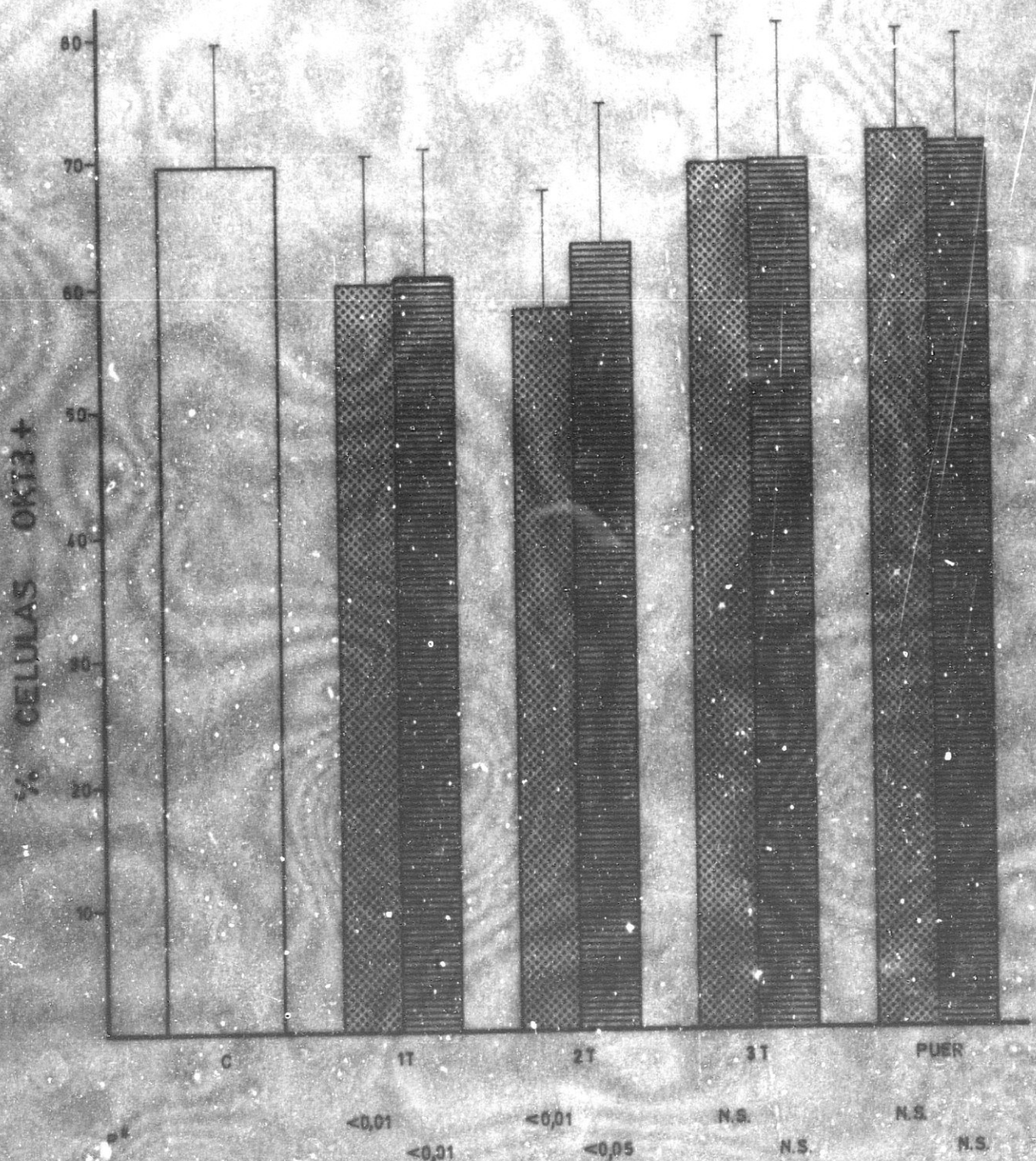
GRAFICA 2



GRAFICA 3: Evolución del porcentaje medio de células mononucleadas $OKT3^+$ en sangre periférica durante el embarazo y puerperio en primigestas y segundigestas.

(Ver abreviaturas de Gráficas).

GRAFICA 3


% CELULAS OKT3+
80
70
60
50
40
30
20
10
C
1T
2T
3T
PUER
p*
<0,01
<0,01
<0,01
<0,05
N.S.
N.S.
N.S.
N.S.

PORCENTAJE MEDIO DE CELULAS MONONUCLEADAS OKT4$^+$ EN SANGRE PERIFERICA DURANTE EL EMBARAZO Y PUERPERIO

Como se aprecia en la Gráfica 4 encontramos un descenso estadísticamente significativo ($p < 0,001$) en el porcentaje medio de células mononucleadas OKT4$^+$ en sangre periférica durante el embarazo (Tabla XIII-B).

El análisis más detallado de la evolución del porcentaje medio de células OKT4$^+$ durante el embarazo y puerperio, nos permite observar cómo el mencionado descenso se inicia en el primer trimestre ($p < 0,01$) y continúa en el segundo ($p < 0,01$). Volviendo a un porcentaje medio similar al de mujeres no embarazadas en el tercer trimestre y puerperio (Tabla IV, Gráfica 5).

Estas variaciones las encontramos también al dividir el grupo total, en los subgrupos de primigestas y segundigestas (Tabla V, Gráfica 6). El ser primigesta o segundigesta no influye en el porcentaje medio de células OKT4$^+$. (Tabla VI).

Las variaciones que se observan en el porcentaje medio de células OKT4$^+$ durante el embarazo y puerperio, son idependientes del número de embarazos anteriores, en nuestro caso, de ser primigestas o segundigestas. (Tabla VI),

TABLA IV

EVOLUCION DEL PORCENTAJE MEDIO DE CELULAS MONONUCLEADAS OKT4^{+} EN SANGRE PERIFIERICA DURANTE LA GESTACION Y PUERPERIO

GRUPO	n	MEDIA(%)	D.S.	t exp§
CONTROL	50	44,42	8,55	---
1 TRIMESTRE	50	36,38	8,10	4,77 **
2 TRIMESTRE	50	33,98	7,75	6,19 **
3 TRIMESTRE	50	43,76	7,86	0,39
PUERPERAS	50	45,04	9,72	0,37

Ver abreviaturas de Tablas.

TABLA V

EVOLUCION DEL PORCENTAJE MEDIO DE CELULAS MONONUCLEADAS OKT4$^+$ EN SANGRE PERIFERICA DURANTE EL EMBARAZO Y PUERPERIO EN PRIMIGESTA Y SEGUNDIGESTA.

CONTROL n = 50 44,42 ± 8,55	MEDIA ± D.S. DE CELULAS OKT4$^+$ (%)			
	1T	2T	3T	PUER.
PRIMIGESTA n° = 100	36,48 ± 9,79 § 3,85 **	32,48 ± 9,32 5,80 **	41,68 ± 8,14 1,33	45,64 ± 10,69 0,59
SEGUNDIGESTA n° = 100	36,28 ± 6,16 3,95 **	35,48 ± 5,57 4,34 **	45,84 ± 7,13 0,69	44,44 ± 8,83 0,01

Ver abreviaturas de Tablas.

TABLA VI

DATOS DE LA TABLA V TRATADOS COMO UN ANALISIS DE LA VARIANZA DE DOS VIAS CON VARIOS ELEMENTOS POR CASILLA.

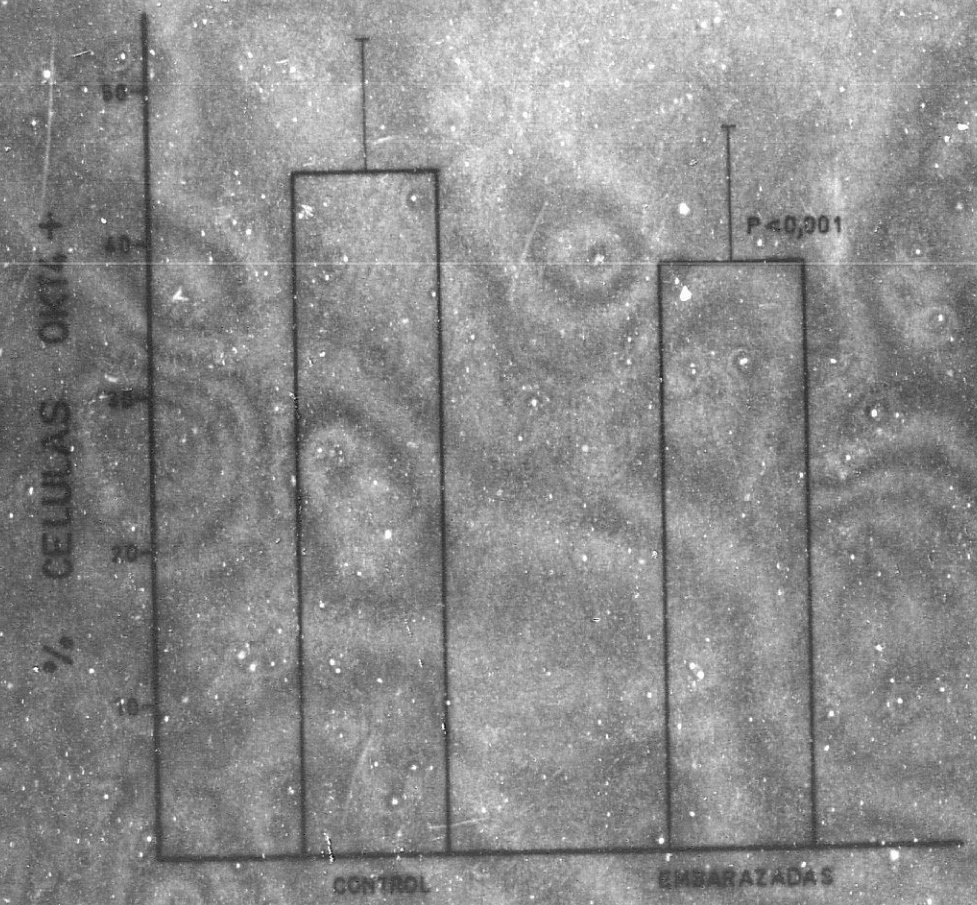
	g l	S C	m.c.	F exp.	Significación
Entre filas (embarazos anteriores)	1	103,7	103,7	1,48	N.S.
Entre columnas(período de gestación)	3	4435,4	1478,5	21,06	0,1 %
Interacción (F x C)	3	243,6	81,2	1,16	N.S.
Dentro	192	13468,5	70,2	---	

(Ver abreviaturas de Tablas).

GRAFICA 4: Porcentaje medio de células mononucleadas $OKT4^+$ en sangre periférica en el grupo de control y embarazadas.

(Ver abreviaturas de Gráficas).

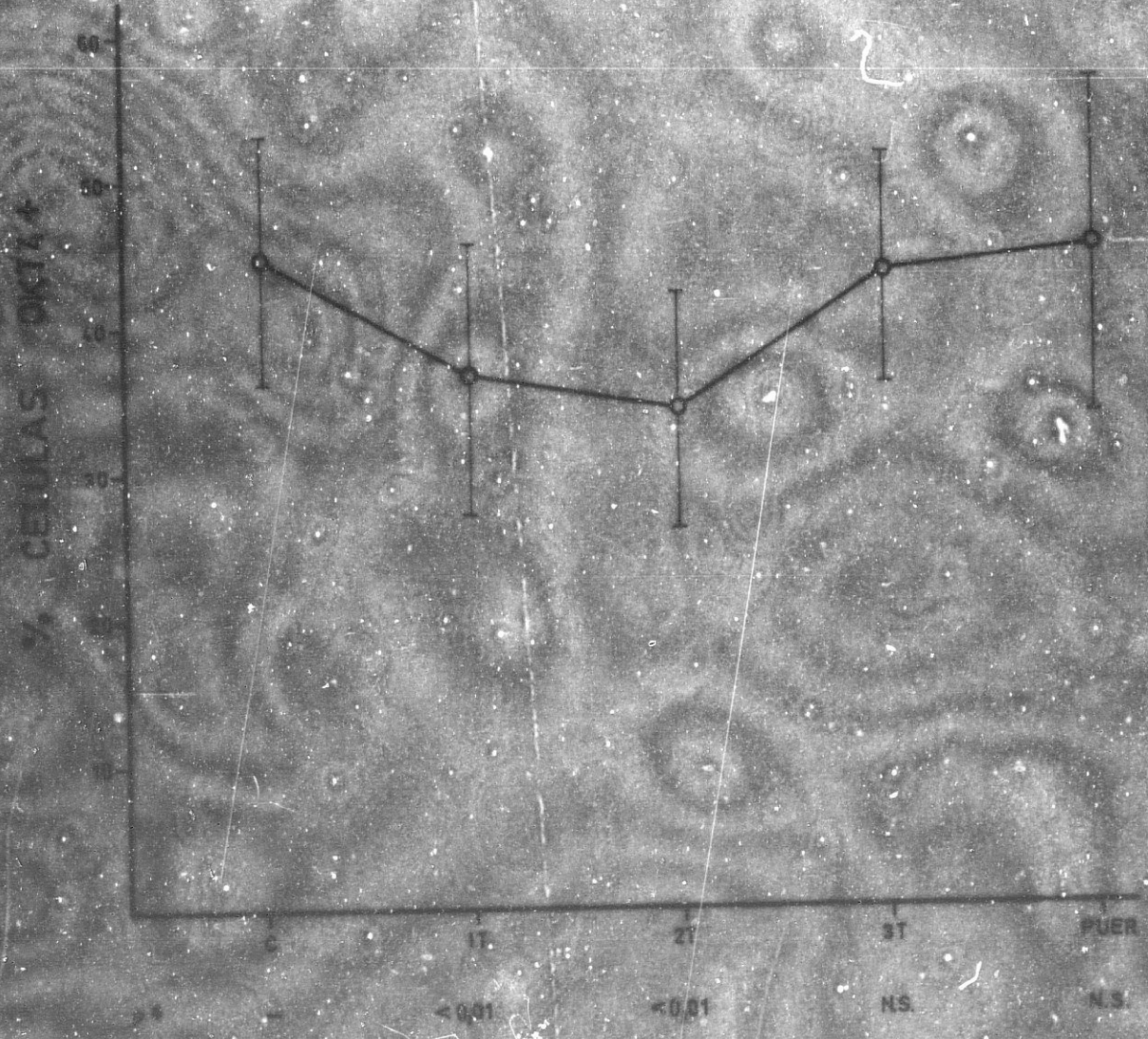
GRAFICA 4



GRAFICA 5: Evolución del porcentaje medio de células mononucleadas OKT4$^+$ en sangre periférica durante el embarazo y puerperio.

(Ver abreviaturas de Gráficas).

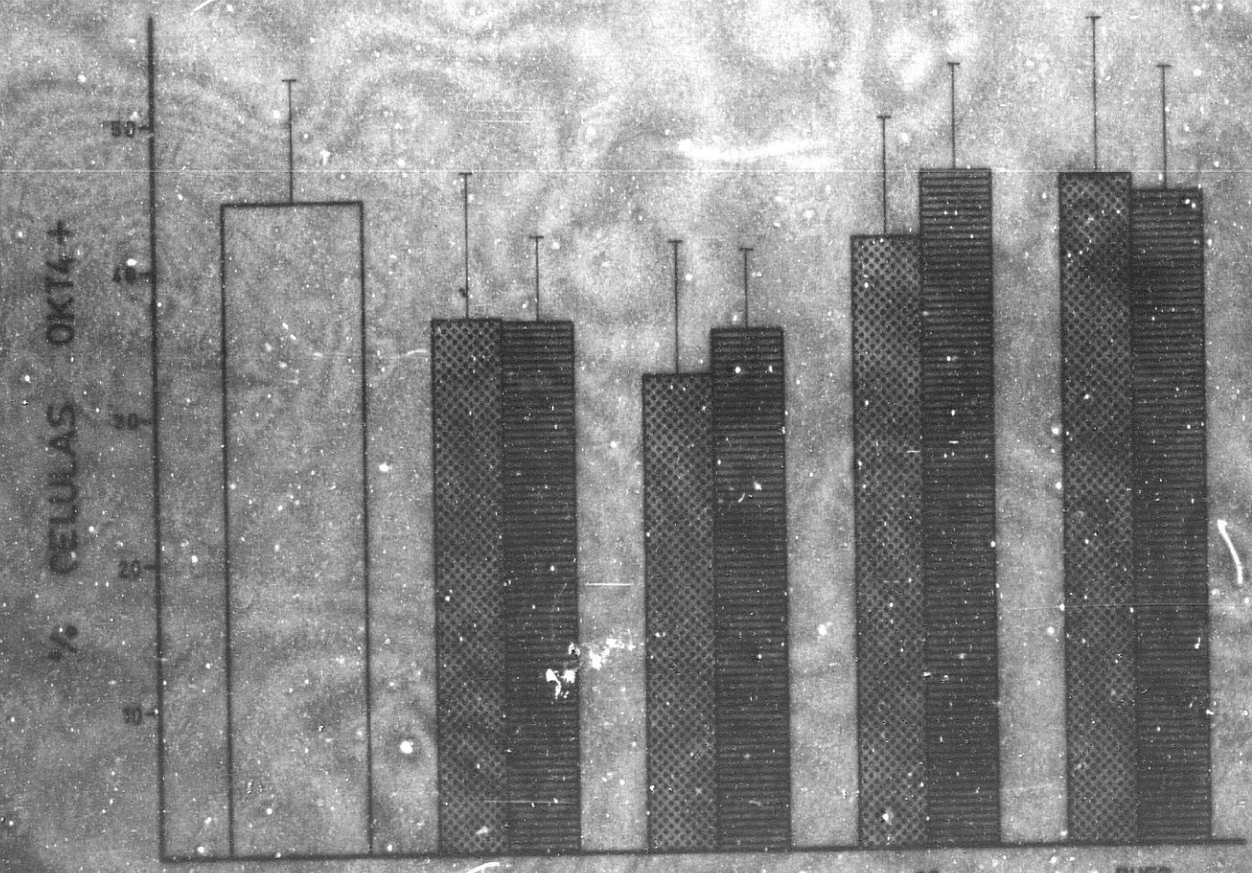
GRAFICA 5



GRAFICA 6: Evolución del porcentaje medio de células mononucleadas OKT4$^+$ en sangre periférica durante el embarazo y puerperio en primigestas y segundigestas.

(Ver abreviaturas de Gráficas).

GRAFICA 6


% CELULAS OKT4+
50
40
30
20
10
S
1T
2T
3T
PUER.
P*
<0,01
<0,01
N.S.
N.S.
<0,01
<0,01
N.S.
N.S.

PORCENTAJE MEDIO DE CELULAS MONONUCLEADAS OKT8$^+$ EN SANGRE PERIFERICA DURANTE EL EMBARAZO Y PUERPERIO

No observamos diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje medio de células mononucleadas OKT8$^+$ en sangre periférica entre mujeres no embarazadas del grupo control y mujeres gestantes.(TablaXIII-C, Gráfica 7).

Encontramos un ligero descenso en la porporción de células OKT8$^+$ en el primer trimestre y puerperio, pero en ningún caso fue estadísticamente significativo. (Tabla VII,Gráfica 8-A).

Ni primigestas ni segundigestas difieren del grupo control en el porcentaje medio de células OKT8$^+$ durante el embarazo y puerperio. (Tabla VIII,Gráfica 8-B). Además no encontramos evidencias para pensar que el haber estado embarazada anteriormente (ser primigesta o segundigesta) influya sobre el porcentaje medio de células OKT8$^+$ (Tabla IX).

El comportamiento durante el embarazo y puerperio de este porcentaje es independiente de ser primigesta o segundigesta. (Tabla IX).

TABLA VII

EVOLUCION DEL PORCENTAJE MEDIO DE CELULAS MONONUCLEADAS $OKT8^+$ EN SANGRE PERIFERICA DURANTE LA GESTACION Y PUERPERIO

GRUPO	n	MEDIA (%)	D.S.	T exp §
CONTROL	50	27,14	6,23	---
1 TRIMESTRE	50	25,42	6,87	1,30
2 TRIMESTRE	50	27,78	7,01	0,49
3 TRIMESTRE	50	27,82	5,76	0,52
PUERPERAS	50	25,90	7,03	0,94

Ver abreviaturas de Tablas.

TABLA VIII

EVOLUCION DEL PORCENTAJE MEDIO DE CELULAS MONONUCLEADAS OKT8$^+$ EN SANGRE PERIFERICA DURANTE LA GESTACION Y PUERPERIO EN PRIMIGESTAS Y SEGUNDIGESTAS

CONTROL	MEDIA ± DS DE CELULAS OKT8$^+$ (%)			
n = 50				
27,14 ± 6,23	1T	2T	3T	PUER.
PRIMIGESTA	24,60 ± 6,95	27,28 ± 5,96	27,44 ± 4,91	26,28 ± 5,81
n° = 100	§ 1,44	0,09	0,18	0,53
SEGUNDIGESTA	26,04 ± 6,88	28,28 ± 8,02	28,20 ± 6,59	25,52 ± 8,18
n° = 100	0,68	0,70	0,65	1,00

Ver abreviaturas de Tablas.

TABLA IX

DATOS DE LA TABLA VIII TRATADOS COMO UN ANALISIS DE LA VARIANZA DE DOS VIAS CON VARIOS ELEMENTOS POR CASILLA.

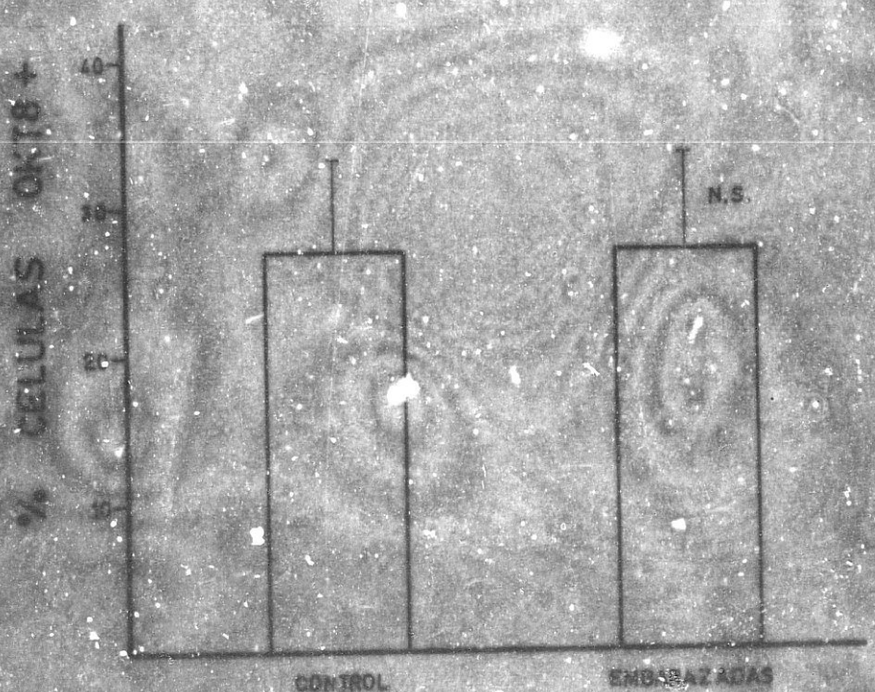
	g.l.	S.C.	m.c.	F exp.	Signiicación
Entre filas (embarazos anteriores)	1	15,7	15,7	0,34	N.S.
Entre columnas (período de gestación)	3	234,8	78,3	1,72	N.S.
Interacción (F x C)	3	30,4	10,2	0.22	N.S.
Dentro	192	8728,5	45,5	---	

(Ver abreviaturas de Tablas).

GRAFICA 7: Porcentaje de células mononucleadas $OKT8^{+}$ en sangre periférica del grupo control y embarazadas.

(Ver abreviaturas de Gráficas).

GRAFICA 7



GRAFICA 8-A: Evolución del porcentaje de células mononucleadas $OKT8^+$ en sangre periférica durante el embarazo y puerperio.

(Ver abreviaturas de Gráficas).

GRAFICA 8-B: Evolución del porcentaje medio de células mononucleadas $OKT8^+$ en sangre periférica - durante el embarazo y puerperio en primi-- gestas y segundigestas.

(Ver abreviaturas de Gráficas).

GRAFICA 8

COMPARACION DE LA EVOLUCION DEL PORCENTAJE MEDIO DE CELULAS OKT3$^+$, OKT4$^+$, OKT8$^+$ DURANTE LA GESTACION Y PUERPERIO

En la Gráfica 9 se resumen los resultados presentados anteriormente en relación con la evolución a lo largo del embarazo y puerperio de las subpoblaciones OKT3$^+$, OKT4$^+$, OKT8$^+$.

Encontramos que mientras las células OKT8$^+$ no varían signifcativamente durante el embarazo y puerperio, las OKT3$^+$ y OKT4$^+$ llevaron una evolución paralela, tanto en su descenso durante el primer y segundo trimistre como en su recuperación, en el tercer trimestre y puerperio.