

ESTUDIO PROSPECTIVO DE PRODUCTOS DE EMBARAZOS DE PACIENTES PORTADORAS DE LUPUS ERITEMATOSO GENERALIZADO (LEG)

Mauricio Frajman*

key Word Index: Systemic Lupus Erythematosus, Pregnancy, suppressor function, immune complexes.

RESUMEN

Se pretende dilucidar ciertos marcadores de los circuitos de inmunorregulación, uniendo 2 entidades inmunológicamente complejas, el lupus eritematoso generalizado (LEG) y el embarazo.

Para esto comparamos los siguientes parámetros: función supresora celular, respuesta mixta linfocitaria autóloga, cuantificación de complejos inmunes y anticuerpos anti-DNA de doble cadena, en 20 pacientes con LEG embarazadas y sus productos, comparando estos resultados con controles apareados.

Las pacientes con LEG presentan una normalización en la función supresora durante el embarazo, tanto la generada espontáneamente, como la inducida por concanavalina-A, al ser comparada con controles normales embarazadas. Lo mismo pasa con la respuesta en cultivo mixto linfocitario autólogo y cuantificación de anti-DNA.

Podemos concluir que las anormalidades funcionales de los linfocitos T, encontradas en los pacientes con LEG, tienden a corregirse durante el embarazo. Esto explicaría, en parte, la remisión o persistencia de inactividad de la enfermedad durante la gestación, además de inducir a la normalidad clínica y de laboratorio que se encuentra en los productos de los embarazos de estas pacientes.

A pesar de esta aparente normalidad en la inmunorregulación, tanto en el suero de las pacientes embarazadas como en el de los cordones umbilicales de sus productos, encontramos niveles elevados de complejos inmunes, que podrían estar formados por una red de idiotipos-anti-idiotipos regulando la producción de los autoanticuerpos. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1984; 5(1): 1 - 7].

INTRODUCCION

El lupus eritematoso generalizado (LEG) es una enfermedad autoinmune caracterizada por la activación policlonal de linfocitos B, con la consecuente producción de

* Instituto Costarricense de Investigación y Enseñanza en Nutrición y Salud. (INCIENSA), Apdo. 4, Tres Ríos, Costa Rica.

múltiples auto-anticuerpos. Es característica la presencia de anticuerpos anti-DNA de doble cadena.

La sobreproducción de auto-anticuerpos se debe, en parte, a una disminución en la función supresora de los linfocitos T de estos pacientes (1, 3, 8). Este defecto se mantiene incluso en pacientes en fase inactiva de la enfermedad (17); sin embargo, existe solamente una condición en la cual la función supresora se normaliza y ésta es el embarazo (12).

Este fenómeno podría explicar la constatación clínica de que el LEG tiende a disminuir su actividad a partir del segundo trimestre de gestación (4, 7, 10, 13). La importancia de este hecho trasciende al análisis de la enfermedad en sí, pues agrega argumentos al postulado de que una supresión potente por parte de los linfocitos T ayuda a prevenir el rechazo de este injerto fisiológico. (14).

El objetivo de este estudio fue el de analizar clínica e inmunológicamente a los productos de embarazos en pacientes con LEG y sus controles normales.

MATERIAL Y METODOS

Pacientes y controles

Se estudiaron 20 pacientes embarazadas portadoras de LEG, que cumplieran los criterios preliminares de diagnóstico de la American Rheumatism Association (5). Diecisiete de ellas se encontraban en fase inactiva de la enfermedad. Ninguna paciente recibió tratamiento con corticoesteroides o drogas inmunosupresoras durante el estudio, ni tampoco los había recibido en los 3 meses anteriores. El grupo control consistió de 20 mujeres sanas embarazadas, apareadas por edad, condición social y tiempo de embarazo, con las enfermas.

Se tomaron muestras de sangre periférica de las pacientes y controles dos veces cada trimestre de embarazo y en la primera semana post-parto. Además, se tomó muestra de sangre del cordón umbilical al momento del parto. Las muestras fueron divididas en dos partes, una se mantuvo anticoagulada con heparina (10 UI/ml de sangre) para los estudios celulares, y la otra parte se coaguló a 4 °C, y el suero obtenido se utilizó para los estudios humorales.

ANALISIS DE LABORATORIO

a) Estudio de función supresora:

Se midió la capacidad de los linfocitos T supresores, obtenidos por cultivo espontáneo (6 días) y por estimulación con el mitógeno concanavalina A (con-A) (3 días) a 37 °C, 5 por ciento CO₂ y 100 por ciento de humedad, para inhibir la proliferación de células B autólogas estimuladas con el mitógeno *Fitalaca americana* (PWM), por método previamente descrito (12, 17).

b) Cultivo mixto linfocitario autólogo (RMLA):

Se midió la capacidad de los linfocitos No-T para estimular a los linfocitos T autólogos en un cultivo de siete días, midiéndose entonces la incorporación de

timidina tritiada a las células (15). Los resultados se reportan como índice de estimulación (IE) calculado de la siguiente forma:

$$IE = \frac{\text{Cuentas por minuto del cultivo de células T + células No-T}}{\text{Cuentas por minuto de células T cultivadas solas}}$$

c) Cuantificación de anticuerpos anti-DNA de doble cadena :

Se utilizó el método de radioinmunoensayo de Farr (16) y se reporta como porcentaje de captación de DNA.

d) Cuantificación de complejos inmunes circulantes (CIC):

La detección de CIC se realizó por dos métodos, uno midiendo la inhibición de citotoxicidad dependiente de anticuerpo (ICCD), y el otro por la técnica de ELISA usando Clq ambos métodos previamente descritos (11).

ANALISIS ESTADISTICOS

Los valores de probabilidad fueron calculados utilizando la prueba U de Mann - Whitney para datos no paramétricos.

RESULTADOS

Diecinueve de las 20 mujeres portadoras de LEG llegaron a término de su embarazo; una paciente que presentaba actividad de la enfermedad, con nefropatía previamente diagnosticada, abortó en la 10ª semana de gestación y no fue posible estudiar histopatológicamente el feto. De las demás, un parto fue realizado por cesárea (por desproporción cefalopélvica) y los demás fueron partos eutósicos, como lo fueron los 20 controles. Los productos de los 39 partos antes referidos no presentaron clínicamente ninguna anomalía.

En el Cuadro 1, se observa que la función supresora de las pacientes con LEG se mantuvo en niveles normales durante todo el transcurso del embarazo, al ser comparada con la función supresora de las células T circulantes de los controles ($P > 0.05$). Esta misma similitud se encontró en los cordones umbilicales de los dos grupos de productos. Sin embargo, en todas las pacientes esta función bajó a niveles subnormales en forma temprana post parto ($P < 0.001$), sin que este fenómeno se acompañara de reactivación de la enfermedad, excepto en un caso que fue el mismo que presentó elevación en la captación de DNA (58%). Las demás pacientes y controles presentaron captaciones de DNA, que se mantuvieron normales durante el embarazo y en el post parto, así como en la sangre del cordón umbilical ($12 \pm 6\%$).

Durante el embarazo, no se observó diferencia significativa de los dos grupos de mujeres (Cuadro 1). Sin embargo, en el post parto la diferencia fue estadísticamente significativa ($P < 0.01$) por la disminución de los I.E., en las pacientes con LEG. Las células de los cordones umbilicales presentaron un I.E. semejante entre los 2 grupos de productos.

Las pacientes con LEG presentaron en el embarazo, post parto y en los cordones umbilicales de los productos, cantidades mayores de CIC que los controles ($P < 0.001$) medidas por los 2 métodos (Cuadro 2). Por otro lado, al comparar

las CIC de la sangre de los cordones umbilicales de los productos de las pacientes con LEG con los de sus madres en el post-parto, encontramos una diferencia significativa por el método que mide fijación de Clq a los CIC (P 0.01) (Cuadro 2).

DISCUSION

Estudios extensos en pacientes con LEG, tanto en presencia de actividad clínica como en ausencia de ésta, han demostrado consistentemente una disminución en la función supresora de los linfocitos T (17). Como hemos reportado anteriormente (12), el grupo de pacientes embarazadas, aparentemente, es el único caso en que el LEG presenta función supresora normal. La realización del estudio en mujeres que no recibían ningún tratamiento inmunosupresor o con esteroides, elimina la posibilidad de que los cambios por nosotros observados sean debidos a la acción de estas drogas. Sin embargo, este hecho limita el estudio clínico, pues no permite incluir pacientes con nefropatía importante o con actividad sistémica de la enfermedad. Por otro lado, pudimos confirmar las observaciones clínicas de Gaserstein y colaboradores (13), quienes encontraron que, excepto en los casos de severidad extrema de la enfermedad, esta tiende a inactivarse durante la segunda mitad de la gestación.

La RMLA es un método importante en el estudio de los circuitos de inmunorregulación en el proceso de reconocimiento de lo propio, pues, además de que en este sistema se genera supresión, también se le ha implicado capacidad de memoria y especificidad (19). Las pacientes con LEG presentan alteraciones en su RMLA independiente de la actividad de la enfermedad (15), que se corrige en el embarazo y vuelve a alterarse en el post-parto de la misma forma que la función supresora. Sin embargo, ambos parámetros se encuentran normales en las células de los cordones umbilicales de los productos-La cuantificación de CJC da una información muy interesante, pues, a pesar de que las funciones celulares medidas en las pacientes con LEG durante el embarazo y en los productos se encuentran normales, los CIC se encuentran elevados, esto lleva a postular que estos CXC sean formados por complejos idiotipo-anti-idiotipo, que esten colaborando en la homeostasia del sistema inmune, inhibiendo la expresión de los auto-anticuerpos circulantes (2).

Actualmente en el laboratorio de Inmunología del INCIENSA, estamos realizando estudios con el fin de identificar los componentes de estos CIC.

En síntesis, los productos de los embarazos en pacientes con LEG, se presentan como normales, tanto clínica como inmunológicamente. Esto probablemente se debe por un sobre estímulo de la función supresora, asociado al sistema de red de regulación inmunológica idiotipo-anti-idiotipo a raíz del embarazo propiamente dicho.

CUADRO 1
FUNCION SUPRESORA Y CULTIVO MIXTO LINFOCITARIO AUTOLOGO
EN MUJERES EMBARAZADAS NORMALES Y CON LUPUS ERITEMATOSO
GENERALIZADO (LEG)
(PROMEDIO $\pm$ DESVIACION ESTANDAR)

	NORMALES (n =20)			LEG (n=20)		
	Durante embarazo	Post-parto	Cordón umbilical	Durante embarazo	Post-parto	Cordón umbilical
Función Supresora (p/ciento)						
Esponánea	58 $\pm$ 19	56 $\pm$ 4	57 $\pm$ 11	61 $\pm$ 18	15 $\pm$ 3	59 $\pm$ 13
Inducida por con -A	48 $\pm$ 19	48 $\pm$ 5	50 $\pm$ 7	60 $\pm$ 12	12 $\pm$ 1	62 $\pm$ 11
Cultivo Mixto Linfocitario Autólogo (Indice de estimulación)						
	8 $\pm$ 3	8 $\pm$ 2	9 $\pm$ 3	7 $\pm$ 2	3 $\pm$ 1	8 $\pm$ 2

CUADRO 2
CUANTIFICACION DE COMPLEJOS INMUNES CIRCULANTES (CIC)
EN MUJERES EMBARAZADAS NORMALES Y CON LUPUS ERITEMATOSO
GENERALIZADO (MEDIA $\pm$ DESVIACION ESTANDAR, EN ug/ml)

	NORMALES (n = 20)			LEG (n = 20)		
	Durante embarazo	Post-parto	Cordón umbilical	Durante embarazo	Post-parto	Cordón umbilical
Fijación de Clq	16 $\pm$ 3	12 $\pm$ 4	15 $\pm$ 3	139 $\pm$ 44	87 $\pm$ 14	108 $\pm$ 13
ICCD A	7 $\pm$ 4	8 $\pm$ 3	12 $\pm$ 2	115 $\pm$ 58	122 $\pm$ 58	126 $\pm$ 29

ABSTRACT

PROSPECTIVE STUDY OF THE PRODUCTS OF PREGNANT SLE PATIENTS

In this work, we compared 20 pregnant SLE patients without treatment and their products with matched controls, in order to search for cell suppressor function and autologous mixed lymphocyte reaction as well as the presence of circulating immune complexes and anti-DNA antibody in this condition.

Pregnant SLE patients were found to have normal spontaneous generated and con-A -induced suppressor function, when compared to matched normal pregnant females. The same normal results were found in autologous mixed lymphocyte reaction and in the quantification of anti-DNA-antibody.

Functional T cell abnormalities found in SLE patients tend to be corrected by pregnancy. This could explain in part the disease remission and/or the persistence for inactivity in patients during pregnancy. These could also explain the clinical and immunological normalcy found in the products of these pregnancies.

Despite this apparent normalcy of immune regulation, sera from pregnant SLE patients as well as from their products showed higher levels of immune complexes that could be composed of a network of idiotypes and anti-idiotypic antibodies which could regulate the auto-antibody production.

BIBLIOGRAFIA

1. Abdou, N.I.; Sadawas, A.; Pascual, E.; Herbert, J.; Sadeghee, S. Suppressor T cell 1 Abnormality in idiopathic systemic lupus erythematosus *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1976; 6:192-196.
2. Abdou, N.I.; Lindsley, H.B.; Halsey, J.E.; Suzuki, T.; Wall, H. Network theory in autoimmunity: in vitro suppression of serum anti-DNA antibody binding to DNA by anti-idiotypic antibody in systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Invest.* 1981;67:1297-1305.
3. Alarcón-Segovia, D.; Ruiz-Arguelles, A. Decrease circulating thymusderived cells with receptor for the Fc portion of immunoglobulin G in systemic lupus erythematosus. *J. Clin. Invest.* 1978; 62: 1390-1394.
4. Cecere, F.A.; Persellin, R.H. The interaction of pregnancy an rheumatic disease. *Clin. Rheumat. Dis.* 1981; 7:747-828.
5. Cohen, A.S.; Reynolds, W.E.; Franklin, E.C.; Kulka, K.P.; Popes, M.W. Shulmanu, L.E.; Wallace S.L. Preliminary criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Bull. Rheum. Dis.* 1971; 21:643-648.
6. Devoe, L.D.; Taylor, R.L. Systemic lupus erythematosus in pregnancy *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1979; 135:473-480.
7. Estes, D.; Larson, D.L. Systemic lupus erythematosus and pregnancy. *Clin. Obstet. Gynecol.* 1965 8:307-310.

8. Fauci, A.S.; Steinberg, A.D.; Hayness, F.G.; Whalm, G. Immunoregulatory aberrations in systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.* 1978; 121:1473-1476.
9. Faulk, W.P. Immunology of materno-fetal relationship. IN: *Immunology* 80, Academic Press. London, England, 1980; 889-996.
10. Fine, G.L.; Systemic lupus erythematosus in pregnancy. *Ann. Intern. Med.* 1981; 94:667-678.
11. Fishbein, E.; Frajman, M.; Alarcón-Segovia, D. Circulating immune complexes in progressive systemic sclerosis. *Arthritis and Rheum.* (En prensa), 1983.
12. Frajman, M.; Díaz-Jonanan, E.; Alcocer-Varela, J.; Fishbein, E.; Alarcon-Segovia, D. Effect of pregnancy en functions of circulating T cells from patients with SLE. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1983; 29:94-102.
13. Garsenstein, M.; Pollak, V.E.; Kark, R.M. Systemic lupus erythematosus and pregnancy. *New England. J. Med.* 1962; 267:165-171.
14. Hirahara, F.; Gorai, I.; Matsusaki, Y.; Sumiyoshi, Y.; Shiojima, Y. Cellular immunity in pregnancy subpopulation of T Lymphocytes bearin Fc receptors for IgG and IgM in pregnant women. *Clin. Exp. Immunol.* 1980; 41:353-358.
15. Laffón, A.; Alcocer-Varela, J.; Alarcón-Segovia, D. Differences in the kinetics of the autologous mixed lymphocyte reaction in the various connective tissue diseases. *Arthritis and Rheum.* (En prensa), 1983.
16. Lewkonja, R.M.; Barth, P.T.; Hale, G.M.; Hughes, G.R.V. Specificity and clinical relevance of antibodies to double-stranded DNA. *Ann. Rheum. Dis.* 1977; 36 (suppl. 1):114-120.
17. Ruiz-Arguelles, A.; Alarcón-Segovia, D.; Llorente, L., del Giudice-knipping, J.A. Heterogeneity of the spontaneously expanded and mitogen-induced generation of suppression cell function of T cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis and Rheum.* 1980; 23:1004-1009.
18. Smith, J.B.; knowlton, R.P. Activation of suppressor T cells in human autologous mixed lymphocyte culture. *J. Immunol* 1979; 123:419-422.
19. Weksler, M.E.; Kosak, R. Lymphocyte transformation induced by autologous cells. V. Generation of immunologic memory and specificity during the autologous mixed lymphocyte reaction. *J. Exp. Med.* 1977; 146:1833-1841.
20. Zolman, J.I.; Talal, N.; Hoffman, G.S.; Epstein, W.V. Problems association with the management of pregnancies in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.* 1980; 7:37-44.