Gac Méd Caracas 2001;109(2):208-212

Toxoplasmosis latente y embarazo: Concentraciones séricas de interleucina 2, interleucina 4 y receptor soluble de interleucina 2

Drs. Tania Romero Adrián, Evelyn González, Ana Ruiz, Rafael Molina Vílchez, Jesús Estévez

Cátedra y Posgrado de Inmunología. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela

RESUMEN

Estudio de las concentraciones séricas de interleucina-2, su receptor soluble e interleucina-4 en embarazadas con toxoplasmosis latente o sin ella, para evaluar el estado funcional del sistema inmunitario. Se analizaron 4 grupos: 38 embarazadas de segundo y tercer trimestre con parasitosis latente, 38 embarazadas de la misma cronología gestacional sin infección, 38 mujeres no gestantes con y 38 sin toxoplasmosis. La técnica de laboratorio empleada fue el inmunoanálisis enzimático de doble anticuerpo. La medias de la interleucinas-2 en los grupos de embarazadas sin infección (7,7 ± 1,7 y 8,2 ± 1,1 pg/ml) no difirieron estadísticamente de los dos grupos sin embarazo (7,5 ± 1,0 y 8,0 ± 0,8 pg/ml). En embarazadas con infección toxoplásmica, los niveles medios (11,6 ± 2,7 y 11,3 ± 2,6 pg/ml), tuvieron un incremento no significativo con respecto a los dos grupos testigos de no gestantes y a los dos de gestantes sin la infección. Los niveles medios del receptor soluble de interleucina-2 en las infectadas de los tres grupos (172,7 ± 19,2 pg/ml para las no embarazadas; 181,0 ± 12,3 y 149,7 ± 18,5 pg/ml para las embarazadas), descendieron significativamente en relación con las no gestantes no parasitarias (280,6 ± 32,1 pg/ml), pero no tuvieron cambios valederos entre ellos. Los de las embarazadas sin toxoplasmosis (192,0 ± 16,7 y 250,0 ± 14,2 pg/ml) también decrecieron, pero sin significación estadística. Las medias de las concentraciones de interleucina-4 fueron superiores en el resto de los grupos a las de no gestantes no infectadas (1,4 ± 0,2 pg/ml), con validez estadística para las embarazadas sin infección de segundo trimestre (3,6 ± 0,6 pg/ml) y las infectadas del tercero (3,0 ± 0,5 pg/ml), y las no embarazadas pero infectadas (3,0 ± 0,3 pg/ml). El comportamiento de la interleucina-2 y su receptor soluble permite el mantenimiento y evolución del embarazo. Tanto la gestación como la infección toxoplásmica provocan aumento de la interleucina-4.

Palabras clave: Embarazo. Interleucina-2. Interleucina-4. Receptor soluble de interleucina-2. Toxoplasmosis.

SUMMARY

Interleukin-2, interleukin-2 soluble receptor and interleukin-4 serum concentrations were measured in pregnant women with and without chronic toxoplasmosis in order to investigate the immunologic status. Four groups were studied: 38 second and third trimester pregnant women with latent toxoplasmosis, 38 non-infected pregnant women with similar gestational age, 38 non-pregnant with the disease and 38 disease-free nonpregnant subjects. Cytokines and receptor were measured using a double antibody enzymatic immunoassay. In the two groups with disease-free pregnant women, II-2 mean values were 7.7 ± 1.7 and 8.2 ± 1.1 pg/ml, showing no difference with both nonpregnant groups (7.5 ± 1.0 and 8.0 ± 0.8 pg/ml). Mean values in infected pregnant subjects (11.6 ± 2.7 and 11.3 ± 2.6 pg/ml) had a nonsignificant increased in comparison with both nonpregnant groups ad both parasite-free pregnancy groups. There was a significant fall in interleukin-2 soluble receptor mean levels of the three infected groups (172.7 ± 19.2 in nonpregnant, 181.0 ± 12.3 and 149.7 ± 18.5 pg/ml in pregnant women) in relationship with nonpregnant non-infected subjects (280.6 ± 32.1 pg/ml), but with no valid changes among them. A mean concentration nonsignificant decrease was encountered in disease free pregnant women (192.0 ± 16.7 and 250.0 ± 14.2 pg/ml). Regarding interleukin-4, mean concentrations were higher in all groups as compared with the nonpregnant non-infected women (1.4 ± 0.2 pg/ml), although statistical significance was found with second trimester infection-free pregnant subjects (3.6 ± 0.6 pg/ml), third trimester infected (3.0 ± 0.5 pg/ml) and nonpregnant infected women (3.0 ± 0.3 pg/ml). Changes observed in interleukin-2 and its soluble receptor allow pregnancy normal evolution. Both gestation and toxoplasmic infection provoke interleukin-4 rise.

Key words: Pregnancy. Interleukin-2. Interleukin-4. Interleukin-2 soluble receptor. Toxoplasmosis.

Este trabajo fue subvencionado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CONDES) de la Universidad del Zulia.

INTRODUCCIÓN

Salvo casos realmente excepcionales, la infección por Toxoplasma gondii, Tg, se considera inofensiva para los individuos inmunocompetentes (1). Pero puede causar complicaciones a pacientes inmunocomprometidos y al feto (2-4). Por eso, la detección y rápido tratamiento de las infecciones agudas en la embarazada constituyen unas de las metas de la consulta prenatal. Así, en Venezuela, las normas para la atención en salud reproductiva aconsejan dos pruebas serológicas en ese período: una antes de la semana catorce y la segunda entre la treinta y la treinta y cinco (5). Los indicadores de riesgo para toxoplasmosis congénita tienen amplia variedad geográfica, además de la influencia de otras variables. En la región zuliana se ha encontrado 53,91% de prevalencia para serología positiva a Tg en la población gestante humana estudiada por métodos de hemaglutinación indirecta. La frecuencia de infección reciente intragestacional ha sido de 7,20% (5). En países con métodos más avanzados a disposición de estas campañas profilácticas del daño neuro-ocular infantil, se ha llegado a usar la reacción en cadena de la polimerasa para detectar el ácido desoxirribonucleico del Tg (6). Tratar los casos agudos de infección de la gestante ha resultado en una reducción de las secuelas del neonato, tanto mayor cuanto más rápido se instala la terapia.

El grupo de embarazadas seropositivas para IgG anti-Tg se considera prácticamente libre de riesgo de infección congénita del producto, ya que está en la llamada fase latente o crónica de la enfermedad, en la cual los protozoarios, bajo la forma de bradizoítos, permanecen confinados a quistes tisulares, sin tendencia a la ruptura y diseminación. La toxoplasmosis crónica implica un equilibrio inmune entre el parásito y el hospedero, con producción de anticuerpos IgG específicos y linfocitos T memoria que impiden la reactivación o reinfección. Sin embargo, se ha afirmado que los individuos con infección latente pueden presentar brotes esporádicos de parasitemia y liberación de antígenos, por mecanismo actualmente desconocidos (7).

Una parte de la protección inmunológica que tienen los infectados crónicos, es la dependiente de células, con producción de citocinas. De éstas, las que actúan en pro de la eliminación del parásito son: el interferón-gamma o IFN-γ, la interleucina-2 o IL-2, la IL-12 y el factor de necrosis tumoral alfa o TNF-α, sinergístico el último con el IFN-γ (8-11). En el embarazo, el sistema inmunitario materno presenta un predominio de las citocinas producidas por los linfocitos CDA de fenotipo Th2, con disminución funcional de las correspondientes al fenotipo Th1, entre ellas el IFN-γ y la II-2 (12), lo cual teóricamente, supone un mayor riesgo ante las infecciones contra patógenos intracelulares, como el Tg.

En otro trabajo, hemos estudiado las concentraciones séricas de IFN-γ, IL-10 y TNF-α en embarazadas con toxoplasmosis latente o sin ella (13). La presente comunicación trata sobre los niveles de IL-2, su receptor soluble, sIL-2-r e IL-4.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se hicieron cuatro grupos de estudio: 38 mujeres embarazadas con toxoplasmosis latente, 38 embarazadas sin infección, con edades maternas y gestacionales coincidentes con las del grupo anterior, 38 mujeres sin embarazo con toxoplasmosis latente y 38 sin gestación ni infección. Las embarazadas se clasificaron en segundo y tercer trimestre, subdividido en cada uno de estos las infectadas y las no infectadas.

La edad materna para los dos subgrupos del segundo trimestre fue 24,1 ± 1,0, con rango de 21 a 32 años. La gestacional fue de 19,8 ± 0,7, con extremos en 14 y 26 semanas. Ambos subgrupos del tercer trimestre tuvieron edad materna de 26,8 ± 0,9, con rango de 18 a 32 años, y gestacional de 30,9 ± 1,0, con extremos en 27 y 36 semanas. Los dos grupos de controles sin embarazo tuvieron edad de 25,4 ± 0,7, con rango entre 18 y 32 años.

Los criterios de inclusión fueron: interrogatorio negativo para síntomas y examen físico sin anormalidades sugestivas de procesos infecciosos, inflamatorios y neoplásicos, valores de laboratorio normales para hemoglobina y hematocrito, cuenta y fórmula leucocitarias, glicemia y creatinina, orina no patológica, heces sin parásitos, serología negativa para HIV, serología positiva para anticuerpos anti-Tg y coincidencia de edades entre los diferentes grupos, como ya se ha descrito. Se excluyó a mujeres con contracciones uterinas dolorosas o signos físicos de actividad uterina o trabajo de parto.

A todas se les practicó examen serológico con técnica de hemaglutinación indirecta, empleando

reactivos de "Toxo H.A.L. Wampole". Las positivas eran luego investigadas con técnica de inmunoanálisis enzimático (ELISA) para determinar IgM e IgG anti-Tg: IgM con equipos procedentes de "*Sorin Biomedica Diagnostics*", número de lote 2351140, IgG con el lote 2391000 de la misma procedencia. Como infectadas crónicamente con Tg se clasificaron las mujeres positivas a IgG y negativas a IgM, excluyéndose las positivas para los dos anticuerpos.

A las 9 am, en ayunas, se extraía sangre venosa sin anticoagulante, separando el suero por centrifugación a 1 000 g, durante 10 minutos, que se repartía en alícuotas de 0,5 ml, las cuales se almacenaban en tubos plásticos a –70ºC hasta su procesamiento. Las citocinas fueron cuantificadas en suero por técnica de inmunoanálisis enzimático de doble anticuerpo (13,14), usando "*kits*" de "*Quantikine immunoassays*", laboratorios "*R and D Systems*": lotes 9722474 y 9722475 y 9722475 para IL-2; 9723042 y 9723043 para IL-4 y 9714083 y 9714084 para el rsIL-2. La sensibilidad del método para IL-2 es < 7 pg/ml; para IL-4 es < 4,1 pg/ml; y para el rsIL-2 es de 24 pg/ml. El análisis reconoce la citosina y su receptor soluble en las formas natural y recombinante, careciendo de reactividad cruzada e interferencia con otras sustancias.

Los resultados, expresados en pg/ml, se presentan como valores absolutos, rango, media y error estándar. Para comparaciones se utilizó el test ANOVA en una dirección (15), con "*post-test*" de Tukey, tomando el 95% como índice de confiabilidad estadística ($p< 0,05$).

RESULTADOS

Los niveles de IL-2 mostraron evidente incremento en los grupos de embarazadas infectadas en comparación con las gestantes no infectadas, pero sin significación estadística. Lo mismo sucede al compararse los dos grupos de embarazadas infectadas con los dos de no gestantes, con infección o libre de ella (ver Cuadro 1).

En cuanto al rsIL-2, puede verse en el cuadro que las concentraciones alcanzadas en el grupo testigo sin toxoplasmosis, el primero a la izquierda del lector, fueron significativamente superiores a las de los tres grupos de infectadas: $p< 0,01$ con respecto a sus pares no embarazadas con infección; $p< 0,05$ si se compara con las infectadas de segundo trimestre; y $p< 0,01$ con las del tercero. Con los dos grupos de embarazadas sin infección, a pesar de mostrar estos una disminución en cifras absolutas, las diferencias no son significantes. Tanto entre los dos grupos de no embarazadas, como entre los dos del segundo trimestre y los dos del tercero entre sí, no hubo cambios significativos.

Los valores inferiores de IL-4 fueron encontrados en las no embarazadas sin infección, con diferencia significativa respecto a sus pares toxoplasmosis ($p< 0,01$), con las embarazadas de segundo trimestre sin parásito ($p< 0,001$) y con las del tercero con infección latente ($p< 0,05$). De todas maneras, existió un incremento absoluto en todos los grupos, con respecto al control sin infección, pero sin validez estadística cuando se le compara con las embarazadas

Cuadro 1

Concentraciones séricas de IL-2, IL-2Rs y de IL-4 (pg/ml)•

Citocinas	Mujeres no embarazadas		Embarazo			
			Segundo trimestre		Tercer trimestre	
	No emb S/T (n = 38)	No emb C/T (n = 38)	Emb S/T (n =22)	Emb C/T (n = 22)	Emb S/T (n = 16)	Emb C/T (n = 16)
IL-2	7,5 ± 1,0	8,0 ± 0,8	7,7 ± 1,7	11,6 ± 2,7	8,2 ± 1,1	11,3 ± 2,6
IL-2 Rs	280,6 ± 32,1*	172,7 ± 19,2	192,0 ± 16,7	181,0 ± 12,3	250,0 ± 14,2	149,7 ± 18,5
IL-4	1,4 ± 0,2**	3,0 ± 0,3	3,6 ± 0,6	2,6 ± 0,5	2,7 ± 0,5	30,0 ± 0,5

*Diferentes significativamente de No emb C/T ($p< 0,01$), Emb C/T (2º T) ($p< 0,05$) y Emb C/T (3er T) ($p< 0,01$).
**Diferentes significativamente de No emb C/T ($p< 0,01$), Emb S/T (2º T) ($p< 0,001$) y Emb C/T (3er) ($p< 0,05$).
• Media ± error estándar.

con parasitosis del segundo trimestre y con las no parasitarias del tercero.

DISCUSIÓN

Los mecanismos de defensa inmunitaria del organismo humano destinados a mantener los bradizoítos, o trofozoítos de multiplicación lenta de Tg, limitados a los quistes tisulares, son diversos, aunque es particularmente relevante el papel jugado por la actividad del interferón-gamma o INF-γ (8,16,17). Esta sustancia, aunque puede tener funciones biológicas por sí misma, actúa en sinergia con la IL-2 y el TNF-α. La combinación de INF-γ e IL-2 es importante en la protección contra Tg (8,9,16). Sharma y col. han demostrado la participación de la IL-2 aumentando la supervivencia de ratones sometidos a un reto letal con el parásito tras la administración previa de la citocina (9). Sin embargo, algunos autores han encontrado disminución de la actividad de IL-2 en los sobrenadantes de cultivos de esplenocitos de ratones durante algunas etapas de la parasitosis aguda (18,19). Haque y col. observaron un aumento en las células CD8, sugiriendo que la respuesta deprimida de la IL-2 tiene relación con ello, ya que tales células producen elevadas cantidades de IFN-γ, pero poco o nada de IL-2 (18). Pudiera haber diferentes reacciones de la Il-2 frente a la infección aguda o la crónica, además de variaciones interespecies.

En este trabajo, hemos encontrado aumento en la concentración de IL-2 de las embarazadas infectadas de los dos trimestres estudiados con respecto a los demás grupos, aunque según la valoración estadística la diferencia carece de significación. El ligero ascenso de la citocina podría interpretarse como la resultante de dos tendencias contrarias: el sistema inmunitario de la madre hospedera tendería a elevar la producción como parte de la defensa antiparasitaria, pero su condición de embarazadas le impone inhibir esa tendencia, dados los efectos negativos para la gestación de las citocinas de fenotipo TH1, particularmente la IL-2 (12,14,20).

El comportamiento de los niveles del rsIL-2, superior en la muestra de no embarazadas sin infección con respecto a todos los demás grupos, aunque la diferencia sea significativa sólo con los tres de infectadas, parece señalar una tendencia general a la disminución de este marcador de actividad celular, tanto en el embarazo como en la infección toxoplásmica latente, juntos o separados. Este hecho luce paradójico a primera vista. Con el embarazo es lógico que disminuya la activación normal y, por tanto, los niveles del receptor, que es un marcador de distintos tipos de patología hematológica (21), infecciosa viral (22) e inmunológica, incluyendo rechazo de transplante (23), cuya concentración sérica se eleva precozmente en embarazadas que más tarde desarrollan el cuadro clínico de preeclampsia (24). Pero ante la infección se pudiera suponer que el parásito estimule una reacción que tienda a eliminarlo. Sin embargo, tanto los protozoarios como los helmintos liberan antígenos productores de interferencias en la respuesta inmunitaria del hospedero, entre las cuales, en caso de infección de larga data, como la toxoplásmica, figura el agotamiento de los linfocitos Th1, con la consecuente disminución en la actividad celular, puesta en evidencia a través de las concentraciones del rs-IL-2, y la estimulación de células TH2 y macrófagos, las que secretan moléculas inmunosupresores (25).

La IL-4 es una molécula producida por linfocitos T CD4 Th2, mastocitos, basófilos activados y algunas células CD8, que se comporta como inhibidora del fenotipo Th1 (12). Es una pieza clave para la homeostasis del embarazo, en el que se estimula su producción, lo que se traduce en niveles séricos aumentados durante el segundo y tercer trimestre (26). Los resultados aquí presentados permiten considerar que la elevación de IL-4 se da tanto en el embarazo normal como en la parasitosis crónica con embarazo o sin él.

Pero no tenemos una explicación para el hallazgo de valores superiores y estadísticamente válidos de IL-4 en el segundo trimestre en las no infectadas con relación a las no gestantes sin infección, mientras que la relación significante se da en el tercer trimestre con las infectadas. Durante la toxoplasmosis latente, el aumento de la IL-4, un polipéptido inmunosupresor, bien podría representar una de esas interferencias o mecanismos de evasión puesta en marcha por la presencia del parásito.

La coexistencia de embarazo y toxoplasmosis latente plantea un reto natural al equilibrio entre fisiología y enfermedad, durante el cual, la participación de las citocinas es importante y muy compleja.

REFERENCIAS

1. Peterson K, Stray-Pedersen B, Malm G, Forsogren M, Evergard B. Seroprevalence of Toxoplasma gondii among pregnant women in Sweden. Acta Obstet Gynecol Scand 2000;79:824-829.
2. Remington JS, McLeod R, Desmond G. Toxoplasmosis. En: Remington JS, Klein JO, editores. Infectious. Disease of the fetus ad the newborn infant. 4ª edición. Filadelfia: WB Saunders; 1995.p.140-243.
3. Stray-Pedersen B. Toxoplasmosis in pregnancy. En infectious diseases. Challenges for the 1990's. Bailliere's Clinical Obstetrics and Gynaecology. London: Bailliere Tindall; 1993;1-107.
4. Wong SY, Remington JS. Toxoplasmosis in pregnancy. Clin Infect Dis 1994;18:853-862.
5. Soto Urribarrí R, Tarazona de Soto S. Toxoplasmosis y embarazo. Kasmera 1993;21:1-36.
6. Lappalainen M, Sintonen H, Koskiniemi M, Hedman K, Hiilesmaa V, Ammala P. Cost–benefits analysis of screening for toxoplasmosis during pregnancy. Scand J Infect Dis 1995;27:265-272.
7. Wong SY, Remington JS. Biology of Toxoplasma gondii. AIDS 1993;7:299-316.
8. Suzuki Y, Orellana MA, Schreiber RD, Remington JS. Interferon gamma: The major mediator of resistance against Toxoplasma gondii. Science 1988;240:516-518.
9. Sharma SD, Hofflin JM, Remington JS. In vivo recombinant interleukin-2 administration enhances survival against a lethal challenge with Toxoplasma gondii. J Immunol 1985;135:4160-4163.
10. Grazinelli RT, Hieny S, Wynn T, Wolf S, Sher A. IL-12 is required for the T cell-independent induction of IFN-γ by an intracellular parasite and induces resistance in T-deficient hosts. Proc Natl Acad Sci USA 1993;90:6115-6121.
11. Sibley LD, Adams LB, Kukutomi Y, Krahenbuhl JL. Tumor necrosis factor-α triggers antitoxoplasma activity of interferon-γ primed macrophages. J Immunol 1991;147:2340-2345.
12. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mossmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: Is successful pregnancy a Th2 phenomenon? Immunol today 1993;14:353-356.
13. Romero Adrián T, Rincón de Heredia W, Molina Vílchez R, Ruiz A, González E, Estévez J. Interferon-gamma, caquectina e interleucina-10 en el suero de embarazadas con toxoplasmosis latente. Gac Méd Caracas 2001;1:60-66.
14. Romero Adrián T, Ruiz A, Molina Vílche R, González E, Taborda J, Estévez J. Concentraciones séricas de interleucina-2 en el embarazo normal. Rev Obstet Ginecol Venez 1999;59:3-6.
15. Daniel WD. Bioestadística. Bases para el análisis de las ciencias de la salud. 3ª edición. México: Uteha-Noriega editores; 1993.
16. Prigione I, Facchetti P, Ghiotto F, Tasso P, Pistoia V. Toxoplasma gondii-specific CD4+ T cell clones from healthy infected humans display a Th0 profile of cytokine secretion. Eur J Immunol 1995;25:1298-1305.
17. Saavedra R, Hérion P. Human T-cell clones against Toxoplasma gondii: Production of inferferon-gamma, interleukin-2 and strain cross-reactivity. Parasitol Res 1991;77:379-385.
18. Haque S, Khan I, Haque A, Kasper L. Impairment of the cellular immune response in acute murine toxoplasmosis: Regulation of interleukin-2 production and macrophage-mediated inhibitory effects. Infect Immunity 1994;62:2908-2916.
19. McLeod RP, Eisenbauer P, Mack D, Brown C, Filice G, Spitalny G. Immune response associated with early survival after peroral infection with Toxoplasma gondii. J Immunol 1989;142:3247-3255.
20. Marzi M, Vigano D, Trabattoni D, Villa ML, Salvaggio A, Clerici E, et al. Characterization of type I ad type 2 cytokine production profile in physiologic and pathologic human pregnancy. Clin Exp Immunol 1996;106:127-133.
21. Pizzolo G, Chilosi M, Semenzato G. The soluble interleukin-2 receptor in haematological disorders. Br J Haematol 1987;67:377-380.
22. Romero Adrián T. Receptor soluble de interleuquina-22 (RsIL-2) en sueros de individuos infectados por virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Kasmera 1991;19:13-24.
23. Colvin RB, Fuller TC, Mackeen L, Lung PC, Ip SH, Cosimi AB. Plasma interleukin-2 receptor levels in ranal allograft recipients. Clin Immunol Immunopathol 1987;43:273-276.
24. Eneroth E, Remberger M, Vahlne A, Ringnen O. Increased serum concentrations of interleukin-2 receptor in the first trimester in women who later developed severe preeclampsia. Acta Obstet Gynecol Scand 1998;77:591-593.
25. Roitt I, Brostoff J, Male D. Inmunología. 4ª edición. Madrid: Harcourt Brace; 1997;18.1-18.19.
26. Molina Vílchez R, Romero Adrían T, Ruiz A, Heredia W, Atencio R, Taborda JL. Interleucina-4 en el suero de embarazadas normales y preeclámpticas. Rev Obstet Ginecol Venez 2000;60:77-80.