

Actualizaciones

¿El reconocimiento alogénico debe bloquearse para lograr un embarazo exitoso?

Should the alloantigen recognition be blocked to reach a successful pregnancy?

Lic. Esteban Grasso, Lic. Laura Fraccaroli, Lic. Vanesa Hauk, Lucila Gallino, Guillermina Calo, Dra. Claudia Pérez Leirós y Dra. Rosanna Ramborst

*Laboratorio de Inmunofarmacología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA
E-mail: rramborst@qb.fcen.uba.ar*

Resumen

Desde el punto de vista inmunológico, el desarrollo del embarazo normal comprende tres fases asociadas a procesos biológicos distintos. La primera etapa se caracteriza por el predominio de una respuesta proinflamatoria que facilita la implantación embrionaria. Este proceso involucra, entre otros eventos, la ruptura del epitelio uterino, la invasión del endometrio y la remodelación de los vasos maternos que sostendrán la nueva demanda de oxígeno y nutrientes.

La segunda fase inmunológica abarca aproximadamente desde el final del primer trimestre hasta pocas semanas antes del parto y es un período de crecimiento y desarrollo fetal caracterizado por un microambiente antiinflamatorio y tolerogénico. En la última etapa, nuevamente se genera una respuesta proinflamatoria asociada al desencadenamiento del parto. Estos cambios en la respuesta inmunológica materna durante el embarazo están controlados por distintas poblaciones celulares y mediadores que forman una red interdependiente. En este sentido, los linfocitos T regulatorios desempeñan un rol clave para permitir, por un lado, la implantación del embrión y la invasión de la placenta, y por el otro, evitar la generación de una respuesta materna potencialmente dañina. En el presente trabajo describiremos cómo el reconocimiento de antígenos paternos y trofoblásticos por parte de la madre contribuye a la inducción de linfocitos T regulatorios, así como los antígenos maternos no heredados por el feto inducen linfocitos T regulatorios fetales. Por último, discutiremos algunas patologías del embarazo asociadas a la falla de los mencionados mecanismos.

Palabras clave: tolerancia materna, aloantígenos, células T regulatorias, respuesta inmune materna.

Abstract

From an immunological point of view, the development of normal pregnancy involves three phases which are associated with different biological processes.

The first stage is characterized by the predominance of pro-inflammatory response which makes it easier for the embryo to implant. This process involves, among other events, the rupture of the uterine epithelium, invasion of the endometrium and remodelling of the maternal vessels that will support the new demand for oxygen and nutrients. The second immunological stage covers the period that extends from the end of the first quarter to a few weeks before delivery approximately, and constitutes a period of fetal growth and development characterized by an anti-inflammatory and tolerogenic microenvironment. During the last stage, once again a new pro-inflammatory response associated with the delivery triggering is generated. These changes in maternal immunological response during pregnancy are controlled by different cell populations and mediators that form an interdependent network. In this direction, regulatory T cells play a key role to enable, on the one hand the implantation of the embryo and the invasion of the placenta and on the other, to avoid the generation of potentially harmful maternal response. In this study we will describe how recognition by the mother of paternal and trophoblastic antigens contributes to the induction of regulatory T cells as well as how maternal antigens not inherited by the fetus induce fetal regulatory T cells. Finally, we will discuss some pregnancy-related pathology associated to the failure of the mechanisms mentioned above.

Key words: maternal tolerance, aloantigens, regulatory T cell, maternal immune response.

El desafío inmune del embarazo

Durante el embarazo, el feto está en continuo contacto con el sistema inmune materno, y a pesar de que expresa proteínas distintas a las de la madre, el sistema inmune materno lo tolera.

En la década de los 80, se arraigó erróneamente la hipótesis de que el feto se comporta como un semiinjerto y por ello, la madre genera una respuesta de rechazo, la cual debe ser bloqueada para lograr un embarazo

exitoso. Este concepto fue presentado por primera vez en 1953, por Sir Medawar y Billingham, basados en observaciones realizadas entre cruces de ratones de distintas cepas, en las cuales observaban una potente respuesta de rechazo luego del trasplante de explantos de piel entre éstas (1).

Más tardíamente, Peter Doherty y Rolf Zinkernagel describieron las responsables de esta respuesta de rechazo, las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), en el hombre llamado sistema HLA (*human leukocyte antigen*, antígeno leucocitario humano). Así, describieron las “reglas de la restricción y la función de moléculas CMH”, que les valió el premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1996 (2).

Las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH)

Básicamente las moléculas HLA se clasifican en tres clases; las de clase I y las de clase II se relacionan directamente con las respuestas de rechazo entre individuos no relacionados.

Mientras que las HLA de clase I, más precisamente los *productos clásicos* (HLA-A, HLA-B, HLA-C), se expresan en la membrana de todas las células nucleadas y están involucrados en la presentación antigénica de péptidos endógenos y de proteínas extrañas, los *productos no clásicos* (HLA-E, HLA-F, HLA-G) se expresan solo en algunas poblaciones celulares y presentan funciones más específicas (3).

Una de las características de estas moléculas es que se expresan de forma codominante, es decir, el feto expresa tanto las moléculas de origen materno como paterno. Por lo tanto, desde el punto de vista materno, las moléculas HLA paternas se comportan como *aloantígenos*: si bien todas las moléculas HLA presentan una estructura semejante, difieren en su composición genética lo suficiente para ser reconocidas por el sistema inmune materno como moléculas extrañas. Asimismo, no todas las moléculas HLA maternas son heredadas por el feto, por lo cual, aquellas que no hayan sido heredadas serán aloantígenos desde el punto de vista del feto (Figura 1) (4).

De esto se desprende que el sistema inmune de la madre puede reconocer y potencialmente atacar las células del feto que expresan estos aloantígenos de origen paterno. Este ataque conduciría al rechazo del feto y la pérdida del embarazo y, por lo tanto, si esto sucediera, el sistema inmune sería incompatible con la reproducción.

Es importante notar que si bien los aloantígenos constituirían los principales disparadores de la respuesta inmune materna, también participarían otros antígenos paternos o expresados por las mismas células trofoblásticas capaces de despertar en la madre una respuesta inmune innata que luego condicionará la respuesta adaptativa.

Durante los últimos 10 años, gracias a la investigación científica, se ha progresado mucho en la comprensión de los mecanismos que permiten la supervivencia del feto.

En primer lugar, se describió que las células trofoblásticas expresan atípicamente las moléculas HLA como estrategia para evitar el reconocimiento del sistema inmune materno (5). El sinciotrofoblasto, la capa más externa de origen fetal y que está en contacto con la sangre materna, no expresa moléculas HLA de clase I. Además, la capa celular más interna, el citotrofoblasto extraviloso, solo expresa la molécula clásica HLA-C y las moléculas no clásicas HLA-E y HLA-G, las cuales están asociadas con la inhibición de la citotoxicidad y la neovascularización en la interfase materno-placentaria (5).

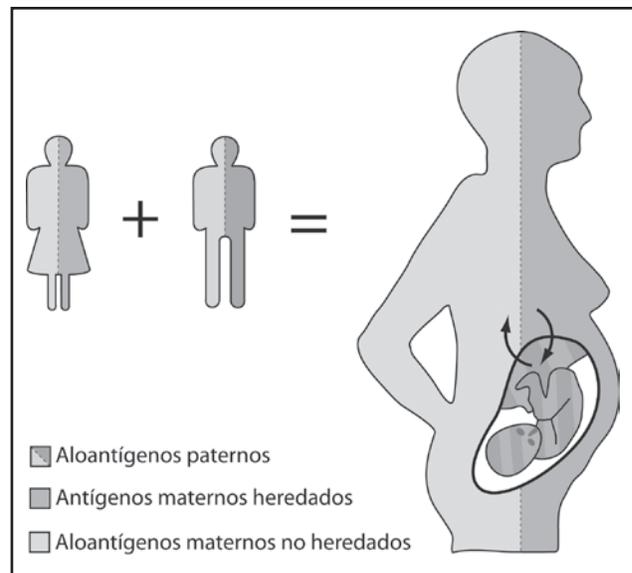


Figura 1. Reconocimiento aloantigénico materno-fetal. La madre reconoce aloantígenos paternos presentes en el feto mientras que el feto reconoce los aloantígenos maternos no heredados.

Fases inmunológicas del embarazo

Actualmente, desde el punto de vista inmunológico, podemos identificar en el embarazo tres fases diferentes: la fase temprana, la media y la tardía, caracterizadas por procesos biológicos y perfiles de respuesta inmune y mediadores particulares de cada fase (6).

La fase temprana se caracteriza por un perfil proinflamatorio. En esta etapa, el embrión debe implantarse en el útero (invasión del trofoblasto) dañando el epitelio, la matriz endometrial y la capa endotelial de los vasos sanguíneos, con el objetivo de alcanzar la vasculatura materna, asegurándose de esta forma un buen suministro de nutrientes, oxígeno y la correcta eliminación de desechos tóxicos. Este microambiente inflamatorio, provocado por la producción de diferentes mediadores,

también debe asegurar la reparación y remoción de células dañadas o muertas durante esta etapa. La segunda fase se caracteriza por la inducción de un estado antiinflamatorio/tolerogénico, en el cual un correcto control de las interacciones inmunes y endocrinas, asegura el crecimiento y desarrollo fetal. En la última fase, nuevamente se produce un ambiente proinflamatorio que promueve la contracción del útero y la expulsión del bebé y la placenta (Figura 2) (7).

Esto nos demuestra que en condiciones normales de gestación existe una fina regulación de la respuesta inmune, tanto a nivel local como sistémico, que acompaña los mencionados cambios de la respuesta inmune. Cuando existen fallas en esta regulación, sobrevienen distintas patologías dependiendo del momento del embarazo en el que ocurre la falla, tales como el aborto recurrente espontáneo de causa inmunológica, preeclampsia, fallas reiteradas en la implantación embrionaria, etc. (8).

Hasta el momento se ha descrito la participación de distintas poblaciones celulares en el control de la respuesta inflamatoria inicial y el posterior cambio a una respuesta tolerogénica o antiinflamatoria: los macrófagos deciduales, las células *natural killer* uterinas, las células dendríticas y los linfocitos T regulatorios (Tregs) (9,10). Todas estas poblaciones contribuirán a mantener un perfil tolerogénico materno a través de distintas estrategias. En este artículo, enfocaremos particularmente el rol de los linfocitos T regulatorios en la respuesta inmune contra aloantígenos.

Los linfocitos T regulatorios

Los linfocitos T regulatorios (Tregs) son una subpoblación de linfocitos T conocidos por su capacidad de suprimir la respuesta inmune a través de la limitación de su alcance y duración. Poseen marcadores fenotípicos característicos de superficie (los receptores CD4 y CD25) e intracelulares (el factor de transcripción FoxP3). Esta subpoblación ha sido estudiada amplia-

mente por su participación en gran cantidad de enfermedades autoinmunes, y en los últimos años se ha estudiado en detalle su papel en la tolerancia materno-fetal, donde se postula que cumplirían un rol clave (11).

Según el origen de las células Tregs, las podemos clasificar dentro de dos categorías básicas: las *Tregs naturales* (nTregs) y las *Tregs inducidas* (iTregs). Las nTregs se originan en el timo, en la selección tímica durante la maduración de los linfocitos T, basado en su capacidad de reconocer autoantígenos. En cambio, las iTregs surgen a partir de linfocitos T vírgenes que reconocen su antígeno-específico en un microambiente inmunosupresor, en presencia de las moléculas factor de crecimiento tumoral beta (TGF-β) e interleuquina 10 (IL-10) (12).

Independientemente de su origen, la acción inmunosupresora de las Tregs se manifiesta al reconocer su antígeno específico pero, una vez activada, es capaz de ejercerla sobre todas las células inmunes del microambiente donde se encuentra. Por otra parte, debido a su origen, las nTregs solo serán capaces de suprimir respuestas contra antígenos propios, mientras que las iTregs también serán capaces de suprimir respuestas contra antígenos extraños (13). En el endometrio, las nTregs se modulan durante el ciclo menstrual por las hormonas sexuales, en preparación para la posible implantación del trofoblasto. En mujeres fértiles, las nTregs se expanden en la fase tardía folicular y su frecuencia se correlaciona con altos niveles de estradiol, para luego disminuir en la fase lútea (14).

En el contexto del embarazo, este concepto puede traducirse en que las nTregs modularían la respuesta inmune contra los antígenos fetales heredados de la madre, mientras que las iTregs modularían la respuesta frente a aloantígenos fetales de origen paterno.

Las iTregs se originan en los ganglios drenantes de la interfase materno-fetal a partir de linfocitos T vírgenes que reconocen a aloantígenos en un contexto tolerogénico (11). Dependiendo del origen de los lin-

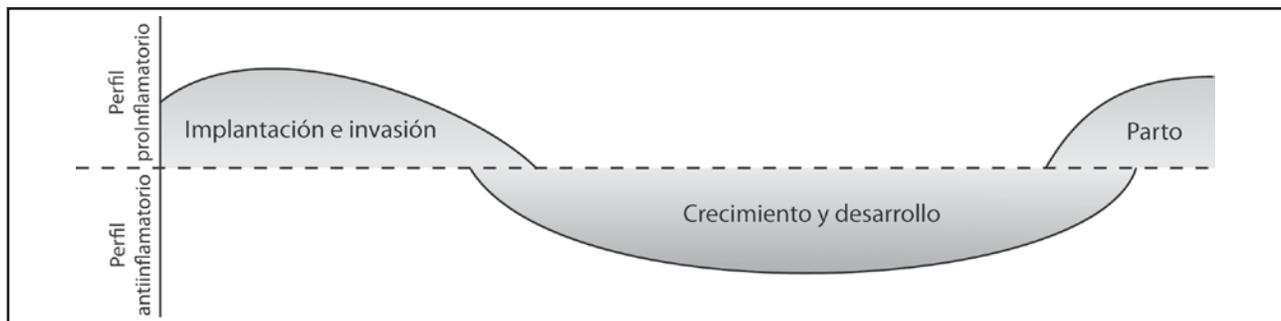


Figura 2. Fases inmunológicas del embarazo. Inicialmente una respuesta proinflamatoria durante la implantación permite la invasión de células trofoblásticas. Luego una respuesta antiinflamatoria asegura el crecimiento y desarrollo del feto. Por último, un cambio hacia una respuesta proinflamatoria se asocia al parto.

focitos T y de los aloantígenos que estos reconocen, las iTregs pueden tener dos orígenes: *linfocitos T maternos*, que reconocen aloantígenos paternos expresados en las células trofoblásticas, y *linfocitos T fetales*, que reconocen aloantígenos maternos no heredados (Figura 3) (15).

Generación de iTregs maternas hacia aloantígenos paternos

La exposición de los linfocitos T maternos a los aloantígenos paternos se produce principalmente en dos etapas: un contacto inicial durante el coito dado por las células en el fluido seminal, y luego un segundo contacto dado por las células trofoblásticas al invadir el endometrio (16).

El semen contiene varios antígenos HLA de clase I (clásicos y no clásicos) y de clase II, asociados al esperma, leucocitos seminales o a células epiteliales descamadas (17). Estos conducen a la activación y proliferación de linfocitos T maternos. El líquido seminal contiene, además, TGF- β y prostaglandina E2 (PGE2), que crean un microambiente antiinflamatorio propicio para la diferenciación de linfocitos T vírgenes a iTregs (18). Estos aloantígenos paternos son capturados por células dendríticas que luego migran a los ganglios linfáticos donde los presentan a linfocitos T vírgenes. Al reconocer su antígeno específico en un contexto tolerogénico, los linfocitos T se diferencian a iTregs (Figura 4). De esta manera, el semen contribuiría a la generación y el mantenimiento de una población de iTregs antígeno-específicas contra los aloantígenos paternos previo a la implantación del embrión (17).

Las células trofoblásticas expresan aloantígenos de origen paterno que son reconocidos por los linfocitos T maternos como extraños, en un ambiente tolerogénico. Esto conduce a la activación y diferenciación de estos linfocitos a iTregs de la misma forma que ocurre ante los aloantígenos paternos presentes en el semen (14). Así-

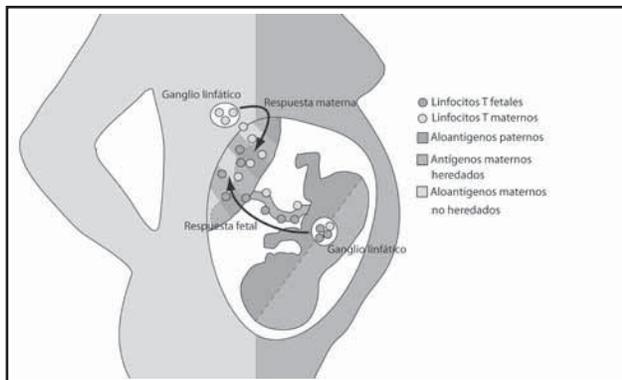


Figura 3. Reconocimiento de aloantígenos por linfocitos T. Los linfocitos T maternos reconocen aloantígenos paternos expresados en las células trofoblásticas mientras que los linfocitos T fetales reconocen aloantígenos maternos no heredados expresados en la decidua.

mismo, las células trofoblásticas secretan quimioquinas (citoquinas con capacidad para atraer distintas poblaciones celulares inmunes), que reclutan las iTregs originadas por contactos previos, así como también a nTregs maternas con alta capacidad supresora (19).

Generación de iTregs fetales hacia aloantígenos maternos no heredados

Desde el punto de vista del feto, las células maternas presentan una serie de aloantígenos que no fueron heredados y, por lo tanto, le son extraños (21). A partir de la semana 10 de gestación ya se pueden detectar células inmunes fetales y evidencias recientes muestran que, en la semana 20 de embarazo, el sistema inmune del feto ya es maduro, activo y capaz de generar una respuesta inmune contra antígenos extraños. Sin embargo, en esta etapa, el sistema inmune del feto está principalmente orientado a generar una respuesta tolerogénica, a través de la generación de iTregs fetales (22).

Recientemente se ha propuesto que durante el embarazo, las células inmunes fetales migran a la placenta donde se encuentran con células maternas que expresan aloantígenos no heredados. Estas células se activan y migran al ganglio linfático fetal donde activan los linfocitos T fetales y, debido al ambiente altamente tolerogénico y supresor donde esto ocurre, los diferencian a iTregs fetales. Luego, las iTregs fetales migran a la placenta donde suprimen la respuesta inmune fetal hacia los aloantígenos maternos no heredados (Figura 5) (21). Por otra parte, evidencias recientes indican que los linfocitos T maternos son capaces de migrar hacia los nódulos linfáticos del feto, y allí estimular la activación y diferenciación de los linfocitos fetales vírgenes a iTregs (23).

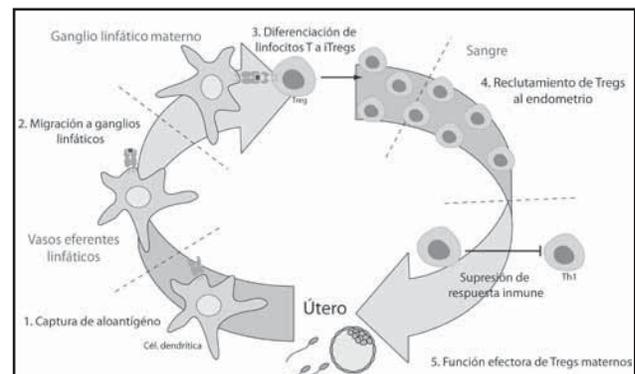


Figura 4. Generación de iTregs maternas. Antígenos procedentes del fluido seminal o de las células trofoblásticas son capturados y procesados por células dendríticas (CD) tolerogénicas. Estas migran a los ganglios linfáticos drenantes del útero donde presentan su antígeno tanto a Tregs como a linfocitos T vírgenes, diferenciando estos últimos a iTregs. Las Tregs luego son reclutadas por el trofoblasto al sitio de implantación donde suprimirán la respuesta potencialmente deletérea de linfocitos T efectoras. Figura adaptada de Guerin y cols., 2009 (20).

La relevancia de la generación de las iTregs fetales se ve reflejada en el hecho de que el número de niños con una mutación totalmente nula de FoxP3, el factor de transcripción indispensable para la generación de Tregs, es prácticamente cero. Se postula que, posiblemente al no regularse la respuesta inmune fetal, ésta dañaría la placenta y, por tanto, al suministro de oxígeno y nutrientes, lo que genera que el embarazo sea inviable (15).

Conclusiones

De la idea original de que el sistema inmune no debía reconocer como extraño al feto para que este sobreviviera, se ha pasado a una hipótesis donde el reconocimiento de los aloantígenos fetales por parte de la madre y de los aloantígenos maternos no heredados por parte del feto es crucial para la generación de una respuesta inmune que permita la implantación del embrión y la invasión de la placenta, y al mismo tiempo sea lo suficientemente controlada para evitar el rechazo. Tanto la falta de reconocimiento de los aloantígenos como la incapacidad de controlar la respuesta inmune hacia ellos por parte de la madre y/o del feto son causas inmunológicas de problemas en el embarazo.

Por otra parte, del concepto de la “placenta como una barrera pasiva” pasamos a la “placenta como un órgano inmune altamente activo en la generación de la inmunotolerancia”. Asimismo, hoy en día se sabe que el feto tampoco tiene un rol pasivo, sino que presenta un sistema inmune maduro y participa activamente en la generación de células inmunes regulatorias.

Desde la ciencia básica se nos plantea entonces, como desafío para los próximos años, el estudio de los mecanismos implicados en la interacción entre el sistema inmune materno, fetal y la placenta involucrados en la generación de tolerancia, con el objetivo de desarro-

llar nuevas técnicas de diagnóstico y posibles tratamientos médicos.

Referencias

1. Billingham RE, Brent L, Medawar PB. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature*. 1953;172:603-606.
2. Zinkernagel RM. Cellular immune recognition and the biological role of major transplantation antigens. *Biosci Rep*. 1997;17:91-111.
3. Dohr G, Hutter H. HLA expression on immature and mature human germ cells. *J Reprod Immunol*. 1998;38:101-122.
4. Loke C, Mofett A. Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nat Rev Immunol*. 2006;6:584-594.
5. Huddlestone H, Schust DJ. Immune interactions at the maternal-fetal interface: a focus on antigen presentation. *Am J Reprod Immunol*. 2004;51:283-289.
6. Mor G. Inflammation and pregnancy: the role of toll-like receptors in trophoblast-immune interaction. *Ann NY Acad Sci*. 2008;1127:121-128.
7. Abrahams VM, Alvero A, Chavez SL, Chen R, Fest S, Mor G, et al. Trophoblast-macrophage interactions: a regulatory network for the protection of pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 2007;57:55-66.
8. Cardenas I, Mor G. The immune system in pregnancy: a unique complexity. *Am J Reprod Immunol*. 2010;63:425-433.
9. Fontana VA. Citoquinas: el lenguaje del diálogo materno-embriionario. *Qviva*. 2008;7:80-102.
10. Loke Y. Uterine mucosal leucocytes. En: Lowe YW, King A (eds.). *Human Implantation: cell biology and immunology*. Cambridge: Cambridge University Press; 1995. p. 102.
11. Aluvihare VR, Betz AG, Kallikourdis M. Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nat Immunol*. 2004;5:266-271.
12. Shevach EM. CD4+ CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. *Nat Rev Immunol*. 2002;2:389-400.
13. Collison LW, Vignali DAA, Workman CJ. How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol*. 2008;8:523-532.
14. Betz AG, Kallikourdis M. Periodic accumulation of regulatory T cells in the uterus: preparation for the implantation of a semi-allogeneic fetus? *PLoS ONE*. 2007;2:e382.
15. Betz AG. Immunology. Have you seen your mother, baby. *Science*. 2010;330:1635-1636.
16. Guerin LR, Hayball JD, Moldenhauer LM, Robertson SA. Activating T regulatory cells for tolerance in early pregnancy - the contribution of seminal fluid. *J Reprod Immunol*. 2009;83:109-116.

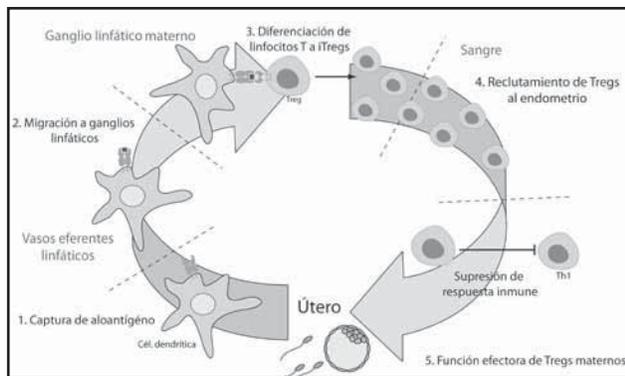


Figura 5. Generación de iTregs fetales. Células dendríticas fetales capturan aloantígenos maternos no heredados e inducen la diferenciación en el ganglio regional de células iTregs fetales. Luego, las iTregs fetales migran a la placenta donde suprimen la respuesta inmune fetal hacia los aloantígenos maternos no heredados.