

## Immunologia della gravidanza e sua valutazione in laboratorio

**F. Monochio, A. Scuteri, S. A. Longo, E. Gulletta**

*Cattedra ed U.O. di Patologia Clinica, Dipartimento di Medicina Sperimentale.*

*Clinica "G. Salvatore", Facoltà di Medicina e Chirurgia,*

*Università degli Studi "Magna Graecia", Catanzaro.*

**Riassunto.** La gravidanza è una condizione clinica che evolve regolarmente grazie al determinarsi di un preciso e delicato equilibrio del sistema immunitario: si determina "tolleranza" presente in tutte le fasi della gravidanza, che crea un ambiente favorevole all'impianto ed allo sviluppo del prodotto del concepimento. Nella evoluzione fisiologica della gravidanza assumono grande importanza varie citochine e fattori di crescita appartenenti alla superfamiglia del TGF- $\beta$ . Le varie isoforme del TGF hanno la capacità di modulare l'adesività cellulare, la migrazione cellulare, il rimodellamento dei tessuti e, quindi, potrebbero controllare l'invasione del trofoblasto, l'impianto dell'ovulo e la immunoregolazione della gravidanza, regolando in maniera autocrina, la crescita, la differenziazione e la secrezione ormonale della placenta. Gli studi più recenti tendono a concludere che, nel corso della gravidanza, si verificano modificazioni ben definite delle popolazioni linfocitarie. Nelle fasi iniziali c'è un aumento dei linfociti T suppressor (CD8<sup>+</sup> CD11<sup>+</sup>) e dei linfociti NK altamente citotossici (CD16<sup>+</sup> CD54<sup>-</sup>). Nelle fasi tardive c'è una diminuzione dei linfociti T helper e NK e nel post-partum aumentano i linfociti T helper, T citotossici, i linfociti T con TCR  $\gamma\delta$  ed i linfociti B CD5<sup>+</sup>. I dosaggi delle citochine, quindi, sono importanti per monitorare lo stato immunologico del paziente. Essi servono per mettere in evidenza gli effetti biologici di questi mediatori, per l'eventuale alterazione del sistema immunitario nel corso di sindromi da poliabortività ricorrente, di preeclampsia e sindromi gestosiche. Noi suggeriamo di valutare i livelli plasmatici delle citochine espresse da linfociti Th1 e Th2, rispettivamente IFN- $\gamma$ , IL-12, e IL-4, IL-10, al fine di inquadrare sul piano fisiopatologico l'eventuale alterazione del sistema immunitario nelle gravidanze a rischio.

### Introduzione

La gravidanza è una condizione clinica che evolve regolarmente anche grazie al determinarsi di un preciso e delicato equilibrio del sistema immunitario. Il feto esprime molecole di istocompatibilità (MHC) sia materne che paterne, tuttavia l'organismo materno non attiva reazioni cellulari immunitarie rivolte contro tale meccanismo di presentazione degli antigeni. Il feto, quindi, è un allotrapianto ben tollerato. D'altro canto, l'immunosoppressione dell'organismo materno è una condizione spinta al punto tale da non causare perdita dei meccanismi immunitari di risposta alle infezioni e di immunosorveglianza nei confronti della trasformazione neoplastica.

I meccanismi immunitari coinvolti nell'evoluzione favorevole della gravidanza sono stati descritti da Medawar nel 1953: il feto non provoca risposta immunitaria; la risposta immunitaria materna è soppressa; l'utero è un organo immunologicamen-

te privilegiato; la placenta è una barriera tra madre e feto (1). L'evoluzione della ricerca scientifica ha confermato l'esattezza di questi postulati ed è indirizzata a comprendere, sempre meglio, i meccanismi biologici che regolano, in maniera tanto precisa, l'attività del sistema immunitario, il suo equilibrio ed i fattori che lo compromettono, al fine di valutare l'evoluzione fisiologica della gravidanza e della crescita del feto o di prevedere e prevenire le gestosi, l'eclampsia e l'aborto (2) (Tabella I).

**Tabella I.** Meccanismi immunologici in gravidanza

La gravidanza è una situazione immunologicamente bilanciata durante la quale

- il feto non dà luogo a risposta immunitaria
  - la risposta immunitaria materna è soppressa
  - l'utero è un sito immunologicamente "privilegiato"
  - la placenta fa da barriera tra madre e feto
  - il sistema immunitario della madre tende ad una situazione di tipo Th2, necessaria per il regolare sviluppo e la progressione della gravidanza
-

## Fasi della gravidanza

Il *concepimento* è favorito, oltre che da condizioni anatomo-funzionali ed endocrine della donna e dell'uomo, anche dalle particolari caratteristiche immunologiche degli spermatozoi e del fluido spermatico. Gli spermatozoi non esprimono molecole del tipo MHC I ed MHC II, pertanto di norma non vengono riconosciuti dal sistema immunitario e riescono ad evadere la risposta immune. Sulla membrana acrosomiale interna esprimono la proteina regolatrice del Complemento (CD46). Nel liquido seminale, tuttavia sono presenti altri antigeni, e varie cellule dello sperma esprimono MHC I ed MHC II. La risposta immunitaria da parte dell'organismo materno a questi antigeni è soppressa da immunomodulatori presenti nel plasma. Nel loro complesso questi fenomeni contribuiscono all'impianto ed alla evoluzione favorevole della gravidanza, al punto che l'assenza di un'adeguata esposizione al liquido seminale aumenta il rischio di mancato impianto, aborto spontaneo e pre-eclampsia. Nei topi la molecola più importante nella induzione di questi fenomeni è il TGF- $\beta$ 1 che provoca flogosi endometriale e stimolazione della produzione di numerose molecole proinfiammatorie e chemotattanti (RANTES, MIP, IL-8, IL-6). La conseguente attivazione dei macrofagi ha per effetto fagocitosi e produzione di citochine Th2 con induzione della tolleranza nei confronti delle molecole MHC paterne. L'esposizione al fluido spermatico, quindi, comporta induzione di un ambiente citochinico e chemochinico di tipo Th2 favorevole alla gravidanza ed alla iporesponsività agli antigeni paterni (3).

Nel corso della *gravidanza*, il trofoblasto svolge il ruolo più importante nell'impedire il riconoscimento degli antigeni fetali e la risposta immunitaria da parte dell'organismo materno. Anche queste cellule non esprimono MHC I e MHC II, di conseguenza i linfociti T della madre che esprimono TCR $\alpha\beta$  non possono dar luogo alla risposta cellulo-mediata citotossica. Inoltre, le cellule del citotrofoblasto extravillioso esprimono MHC Ib, codificato dal gene, minimamente polimorfico, HLA-G, che è tessuto specifico e non espresso in altri tessuti dell'individuo adulto (4). L'espressione di questo gene, oltre a favorire l'angiogenesi dei villi coriali, ha almeno due importanti funzioni immunologiche: inibisce l'attività funzionale dei linfociti NK verso le cellule trofoblastiche e può attivare linfociti CD8 soppressori ed, inoltre, stimola le cellule mononucleate della decidua a favorire lo shift Th1-Th2 e lo stabilirsi di un ambiente citochinico Th2, favorevole allo sviluppo della gravidanza (5). Le cellule del trofoblasto esprimono FasL che trova Fas<sup>+</sup> sui linfociti T materni, che vengono indotti all'apoptosi, contribuendo in tal modo a rendere il trofoblasto un sito immunologicamente privilegiato. Si attiva, pertanto, un importante meccanismo di tolleranza periferica da parte dei linfociti materni nei confronti degli antigeni fetali, del tutto dipendente dalla gravidanza ed attivo soltanto per la sua durata (6).

Un ulteriore meccanismo protettivo è dovuto al fatto che il trofoblasto esprime proteine (CD46, CD55) che inibiscono l'attività della C3 convertasi e (CD59) che previene l'attacco del complemento sulla membrana cellulare. In tal modo è controllata ogni possibile attivazione del fattore C3 materno da parte delle immunoglobuline che attraversano la placenta (7).

Nella evoluzione fisiologica della gravidanza assumono grande importanza varie citochine e fattori di crescita appartenenti alla superfamiglia del TGF- $\beta$ . Questo dato è suffragato dalla possibilità di mettere in evidenza la produzione di TGF- $\beta$ 1, attivata ed inibita nei villi coriali e di dosare le stesse molecole ed in aggiunta TGF- $\beta$ 2 e  $\beta$ 3 nel fluido amniotico. Le varie isoforme del TGF hanno la capacità di modulare l'adesività cellulare, la migrazione cellulare, il rimodellamento dei tessuti e, quindi, potrebbero controllare l'invasione del trofoblasto, l'impianto dell'ovulo e la immunoregolazione della gravidanza, regolando in maniera autocrina, la crescita, la differenziazione e la secrezione ormonale della placenta. TGF- $\beta$ 1 sopprime la produzione locale delle citochine proinfiammatorie da parte dell'organismo materno (ad es. IL-1 ed IL-6 che aumentano nel corso del travaglio del parto) favorendo lo sviluppo del feto (8). Recentemente è stato definito il ruolo di un componente della superfamiglia TGF, MIC-1 (Macrophage Inhibitory Citokine-1). I livelli di questa molecola si innalzano, in corso di gravidanza con l'età gestazionale, nel siero della gestante ma anche nel fluido amniotico ed in estratti placentali. Anche questa molecola favorisce, quindi, il regolare progredire della gravidanza ed inibisce reazioni infiammatorie da parte dell'organismo materno (9).

Studi sulla fisiopatologia del sinciziotrofoblasto mostrano che è possibile indurre l'apoptosi tramite il legame, via LFA-1, di monociti materni attivati con LPS, cui consegue una risposta flogistica mediata dall'attività autocrina di TNF- $\alpha$  (10).

Nel corso della gravidanza che evolve fisiologicamente una grande quantità di citochine sono prodotte dalle cellule della decidua e della placenta. Localmente a livello dell'interfaccia materno-fetale tende a prevalere un ambiente citochinico Th2, con una corrispondente diminuzione delle citochine Th1. Questa situazione non lascia la madre totalmente incapace di dare luogo ad una risposta contro infezioni sostenute da parassiti intracellulari (ad es. Leishmania, Bartonella) che richiedono citochine del tipo Th1. Studi su linfociti in coltura, prelevati da donne gravide, le cui gravidanze hanno dato esito in aborti spontanei o nella nascita di prematuri, hanno consentito di stabilire che in queste condizioni si verifica un'aumentata produzione di citochine Th1 (IFN- $\gamma$ , IL-2) ed una diminuzione di citochine Th2 (IL-10, IL-4) (7).

In condizioni di poliabortività si è potuto mettere in evidenza un polimorfismo genico favorente la produzione di TNF- $\alpha$  ed IL-1 $\beta$  (11). Tuttavia le citochine Th1, non rivestono un ruolo sfavorevole al-

la interazione tra madre e feto, poiché esse sono fondamentali in almeno tre momenti essenziali: impianto dell'ovulo fecondato; inizio del travaglio del parto; protezione immunitaria del feto nei confronti di infezioni sostenute da virus e da *Toxoplasma*. Un gran numero di fattori contribuiscono all'equilibrio tra citochine Th1 e Th2 nel corso della gravidanza: produzione locale da parte della placenta e dell'utero, fattori immunoregolatori placentari e del trofoblasto, fattori ormonali, infezioni intercorrenti, malattie autoimmunitarie preesistenti della madre. Un recente contributo fondamentale è stato fornito dallo studio della espressione del CRTH2 (chemoattractant receptor homologous molecule expressed on Th2) che prevale sui linfociti CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> della decidua nelle fasi precoci della gravidanza. È stato possibile rilevare che la percentuale delle cellule che esprimono CRTH2 nelle popolazioni linfocitarie CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup> e CD3<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> è significativamente più alta a livello della decidua, rispetto al sangue periferico. Ciò dimostra l'importanza che assumono i linfociti Th2 e Tc2 nel mantenimento della gravidanza attraverso le citochine da loro stessi prodotte e successivamente rilasciate (12).

È necessario, quindi, che si verifichi un corretto equilibrio che riguarda il momento, la concentrazione ed il tessuto sul quale le citochine agiscono (13) (Tabella II).

**Tabella II.** Gravidanza e citochine

**Citochine Th1 (IL-2, IL-12, IFN-g)**

- Favoriscono l'impianto dell'ovulo fecondato
- Inizio del travaglio
- Proteggono il feto nei confronti di infezioni virali e da *Toxoplasma gondii*
- Responsabili di poliabortività

**Citochine Th2 (IL-4, IL-10)**

- Stimolano in vitro la produzione di IL-6, IL-8, MCP-1
- Favoriscono la regolare progressione della gravidanza
- Aumento di IL-2 e contemporanea diminuzione di IL-10 sono correlabili ad aborto spontaneo e prematurità del feto.
- Miglioramento clinico delle malattie autoimmunitarie

Gli studi più recenti tendono a concludere che, nel corso della gravidanza, si verificano modificazioni ben definite delle popolazioni linfocitarie. Nelle fasi iniziali c'è un aumento dei linfociti T suppressor (CD8<sup>+</sup> CD11<sup>+</sup>) e dei linfociti NK altamente citotossici (CD 16<sup>+</sup> CD54<sup>-</sup>). Nelle fasi tardive c'è una diminuzione dei linfociti T helper e NK e nel post-partum aumentano i linfociti T helper, T citotossici, i linfociti T con TCR  $\gamma\delta$  ed i linfociti B CD5<sup>+</sup>. Tutte queste modificazioni concordano nell'unica finalità di impedire il riconoscimento degli antigeni fetali da parte del sistema immunitario materno e di evitare che si inneschi a livello del sinciziotrofoblasto un meccanismo di rigetto (7).

La differenza fondamentale tra l'*allograpianto fetale* ed un trapianto di organo consiste nei meccanismi con i quali il sistema immunitario naturale della madre interagisce con gli antigeni fetali. Il sistema immunitario materno è *allertato* a rispondere all'invasione da parte del feto, ma l'interazione tra il sistema immunitario materno e le cellule fetali non costituisce un *ambiente* capace di stimolare il rigetto da parte dei linfociti T, ma piuttosto una condizione di tolleranza per tutta la durata della gravidanza (cfr. 2). Anche se linfociti T materni potenzialmente citotossici sono generati per esposizione ad antigeni fetali, il microambiente uterino è in condizioni di indurre la soppressione dello sviluppo della fase effettrice. PGE2, IL-10, TGF- $\beta$  normalmente presenti a livello placentare agiscono tutti nella direzione di sopprimere l'attivazione e la proliferazione dei linfociti T citotossici. Per contro, nei trapianti con forte reazione di rigetto aumentano le APC - MHC II che per la gran parte sono cellule dendritiche interstiziali.

È ampiamente accettato che un contributo significativo all'impianto dell'ovulo fecondato ed al regolare progredire della gravidanza, oltre che all'induzione dei meccanismi del parto, sia sostenuto dal sistema endocrino. Altrettanto interessanti sono le interazioni che gli ormoni svolgono sulla regolazione della risposta immunitaria. La loro equilibrata increzione coopera nel creare un microambiente favorevole alla risposta immunitaria tollerogena nei confronti del feto (14). In tal modo contribuiscono a mantenere la diversità della risposta dell'organismo ed, in particolare dei tessuti sede dell'impianto, in condizioni di gravidanza ed in condizioni di trapianto allogenico (Tabella III).

**Tabella III.** Gravidanza e linfociti

**Fase iniziale**

- Aumento dei T suppressor
- Aumento degli NK citotossici
- Aumento dei linfociti con TCR $\gamma\delta$

**Fase tardiva**

- Diminuzione dei T helper
- Diminuzione dei T citotossici

**Post-partum**

- Aumento dei T helper
- Aumento dei T citotossici

**Regolamentazione endocrina**

La regolazione endocrina della gravidanza è argomento ampiamente conosciuto. Qui viene riportata in maniera schematica per sostenere una corretta interpretazione dei dati di laboratorio sulla base della evidence based medicine.

Durante la gravidanza i pattern ormonali cambiano bruscamente rispetto a quelli che regolano il ciclo mestruale. La produzione degli ormoni avviene per opera

della placenta e della corteccia surrenale fetale e materna (unità materno-feto-placentare). Gli estrogeni vanno incontro ad un progressivo aumento ed ad una modificazione qualitativa. Inizialmente prevale la produzione da parte del corpo luteo di 17- $\beta$ -Estradiolo. Successivamente è la placenta a produrre la maggior parte degli estrogeni e dalla 20° settimana in poi anche da precursori androgenici fetali. Infatti fino alla 20° settimana l'Estrone ed il 17- $\beta$ -Estradiolo prevalgono sull'Estriolo; tra la 20° e la 30° settimana i livelli dei tre estrogeni sono in equilibrio, fino alla 30° settimana, periodo dal quale prevale l'Estriolo che rispecchia l'intensa attività del surrene e del fegato fetale (unità feto-placentare). Mentre madre e feto contribuiscono in egual misura alla produzione placentare di Estradiolo, l'Estriolo è sintetizzato a partire dai precursori. La zona fetale delle ghiandole surrenali produce DHEAS che viene idrolizzato, nel fegato fetale, formando 16-OH-DHEAS e, quindi, aromatizzato a livello placentare con produzione di Estriolo. La funzione di quest'ultimo ormone, al pari degli altri estrogeni, potrebbe essere quella di aumentare il flusso sanguigno utero-placentare, attraverso la produzione di prostaglandine F $2\alpha$  ed E $2$ . Il metabolismo degli estrogeni nel corso della gravidanza nella specie umana è del tutto particolare. L'aumento dell'Estriolo salivare nelle ultime 4-6 settimane di gravidanza è significativamente più elevato nelle donne a rischio di parto pretermine. La placenta non produce 17-idrossilasi e 17-20 liasi, enzimi necessari per la sintesi di Estradiolo dal progesterone; mentre quest'ultimo ormone è sintetizzato nella placenta a partire dai suoi precursori naturali (acetato e colesterolo). Tra gli altri ormoni, il 17- $\beta$ -Idrossiprogesterone, dopo un iniziale aumento, per la produzione da parte del corpo luteo, diminuisce fino a valori molto bassi; al contrario, il Progesterone, prodotto dalla placenta, ed il suo metabolita Pregnandiolo, aumentano a più del doppio dei valori pregravidici. L'azione più importante del progesterone è quella svolta sul miometrio, che è mantenuto in uno stato di relativa quiescenza ed atonia per la massima parte della gravidanza e quella svolta sul sistema immunitario, che si esplica tramite il mantenimento di una risposta di tipo Th $2$ . Il Progesterone diminuisce la contrattilità del miometrio, inibisce la formazione di "gap" giunzionali tra i miociti, stimola la NO-sintetasi uterina, deprime la produzione delle prostaglandine, lo sviluppo dei canali del Calcio, la comparsa dei recettori per l'Ossitocina, aumenta la sintesi dell'inibitore tissutale della metalloproteinasi-1 (TIMP-1) che ha come effetto la inibizione della collagenolisi. Al termine della gravidanza, tra gli altri fattori coincidenti e concordanti, l'attività della 17,20-idrossisteroidideidrogenasi, sintetizzata dalle membrane fetali, induce un netto aumento del 17- $\beta$ -Estradiolo e del 20-Diidroprogesterone. Questo fenomeno provoca alterazione dell'equilibrio estrogeni/progesterone, a netto favore dei primi e, quindi, l'insorgere del travaglio di parto. La placenta produce altri ormoni di natura proteica HCG ed HPL. HCG è prodotto dal sinciziotrofobla-

sto, la sua concentrazione aumenta in maniera repentina tra 8-10° settimana, con un picco 100.000 mUI/ml, si riduce intorno al 120° giorno di gravidanza e rimane tale fino al termine della stessa. Questo ormone svolge un'azione luteotropica nelle fasi iniziali della gravidanza, contribuendo al mantenimento del corpo luteo ed assicurando una sufficiente produzione di progesterone, fino alla costituzione della placenta. HPL, prodotto anch'esso dal sinciziotrofoblasto, raggiunge concentrazioni che presentano un progressivo aumento dalla 12° alla 36° settimana. FSH diviene rapidamente indosabile circa 10 gg. dopo l'ovulazione rimanendo tale fin dopo il parto, per effetto dell'inibizione del controllo ipofisiario esercitato da HCG e PRL.

L'Ossitocina induce le contrazioni uterine con due meccanismi: stimolando il rilascio di PGE $2$  e PGF $2\alpha$  ed attivando il rilascio di Fosfolipasi C. Le Prostaglandine, prodotte dalla placenta e dalle membrane fetali (amnios e corion) a partire dall'acido arachidonico per opera dell'enzima COX- $2$ , sono correlate alla risposta infiammatoria, mediata dalle Citochine, in corso di infezioni e possono, altresì, concorrere ai meccanismi del parto. Un altro meccanismo ormonale coinvolto nella maturazione fetale e nella comparsa dei meccanismi del parto è il CRH. Questo ormone, nel corso del II trimestre della gravidanza, è prodotto dalla placenta ed è regolato positivamente dal cortisolo. Esso tende ad indurre un ambiente feto-placentare con prevalenza di estrogeni e, tramite la sintesi di glucocorticoidi, regola la maturazione dell'apparato respiratorio del feto. L'aumento del CRH si verifica in maniera sensibile nelle ultime 6-8 settimane di gravidanza e, grazie alla dilatazione dei vasi uterini e fetali, via NO-sintetasi, ed alla stimolazione della muscolatura liscia del miometrio contribuisce ai meccanismi del parto (15).

### Valutazione del laboratorio

Sulla base delle evidenze cliniche, ma soprattutto di una lunga consuetudine, ben definite sono le indagini di laboratorio che vengono effettuate nella fase precedente la gravidanza ed in corso della stessa (Tabella IV).

**Tabella IV.** Indagini di laboratorio

#### Pre-gravidanza

- Emocromo, Gruppo sanguigno,
- VDRL, test HIV, TORCH, Tuberculina,
- Urine,
- HGC

#### In Gravidanza

- Emocromo, Test di Coombs, Urine,
- HCG, HPL,  $\alpha$ -fetoproteina, Estriolo
- Test di citogenetica

#### Test per malattie preesistenti

- Mal. Autoimmunitarie, Diabete mellito

Negli anni più recenti è divenuto diffuso lo screening, nel corso del secondo trimestre di gravidanza, di alcune anomalie fetali, quali difetti del tubo neurale, trisomia 18, trisomia 21. Esso è basato sul dosaggio nel sangue materno di  $\alpha$ -fetoproteina, Estriolo e  $\beta$ -HCG. L'interpretazione di dati analitici ben al di sopra dei valori di riferimento, sulla base di curve ROC, sembra promettente per fornire ulteriori dati, facilmente ripetibili nel tempo, di malformazioni fetali (16).

Altre indagini di laboratorio, volte a ottenere indicazioni probanti circa il rischio di gestosi ed eclampsia, valutano vari parametri predisponenti alla ipercoagulabilità, quali il polimorfismo del gene ACE, o l'iperomocisteinemia. Tuttavia, è necessario che vengano condotti studi prospettici di lunga durata e su un largo numero di pazienti, affinché possano essere tratte conclusioni significative (17).

Di gran lunga più interessanti, sulla base delle premesse fisiopatologiche esposte, risultano le indagini di laboratorio tendenti ad interpretare l'attività biologica del sistema immunitario. Queste indagini risultano di grande importanza anche nel corso di una gravidanza fisiologica con un feto normosviluppato, poiché contribuiscono al monitoraggio delle interazioni tra l'organismo materno e quello del feto, che non sono soltanto su base endocrina, ma soprattutto su base immunologica.

Ancora più importante è la valutazione di ben precisi parametri immunologici nel caso di una gravidanza "patologica" con uno o più segni clinici di gestosi (ipertensione, proteinuria, edemi). La gestosi, con tutte le sue gravi conseguenze cliniche nei confronti della gestante e del nascituro, deve essere interpretata, sul piano patogenetico, quale segno inconfutabile di un'alterata risposta immunologica tra i due organismi, antigenicamente in parte diversi l'uno dall'altro. Recentemente, in questa ottica, è stato possibile trarre conclusioni valide studiando comparativamente i livelli plasmatici di VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) e PGF (Placental Growth Factor) in donne con preeclampsia. In questi soggetti, i valori plasmatici di VEGF sono significativamente inferiori a quelli presenti nella popolazione di controllo, con pressione arteriosa nei limiti di riferimento (18). Altrettanto significativi, ai fini del monitoraggio precoce delle infezioni fetali, risultano essere i dosaggi dei livelli sierici di IL-1 $\beta$ , IL-8, G-CSF e soprattutto di IL-6. L'analisi della curva ROC indica un valore predittivo significativo nella correlazione tra l'incremento dei valori di questa citochina nel sangue del cordone ombelicale e l'insorgenza di infezioni fetali (19).

Il dosaggio sierico mediante metodologia immunoenzimatica delle citochine rappresenta, dal punto di vista laboratoristico, un approccio che garantisce soddisfacenti livelli di specificità e di sensibilità. Inoltre, grazie all'impiego di apparecchiature automatizzate e controllate da computer, questi dosaggi risultano particolarmente affidabili e riproducibili. Piuttosto, è l'interpretazione patogenetica ed il valo-

re predittivo da assegnare a dati ottenuti che non sempre rispondono alle esigenze del clinico e del laboratorista, poiché si misura un effetto periferico (variazione dei livelli sierici) di un evento biologico prevalentemente localizzato a livello del tessuto sede della lesione immunopatologica. A nostro avviso è, quindi, necessario:

- I. attuare una valutazione cinetica, a tempi diversi, della presenza in circolo delle citochine;
- II. individuare quella o quelle che sono significativamente più rappresentative del meccanismo patogenetico;
- III. valutare tutti questi parametri in relazione al singolo paziente, alla ricerca della significatività individuale.

In condizioni patologiche, il dosaggio deve essere indirizzato allo studio di quelle molecole citochiniche che svolgono uno specifico ruolo patogenetico, a sua volta legato principalmente a tre meccanismi fisiopatologici:

- a. Le citochine possono potenziare lo sviluppo della malattia nei modelli sperimentali animali e indurre effetti sistemici indesiderati nei soggetti trattati con dosi terapeutiche.
- b. La terapia sostitutiva con citochine può correggere lo squilibrio esistente in molti stati di immunopatologici.
- c. Rendere inefficace l'azione biologica di citochine endogene migliora i sintomi e tende a modificare il decorso della malattia.

I dosaggi delle citochine, quindi, sono importanti per monitorare lo stato immunologico del paziente. Essi servono per mettere in evidenza gli effetti biologici di questi mediatori, per dosarne i livelli nei fluidi biologici, nei tessuti, nelle singole cellule, la regolazione dei loro livelli di espressione, per valutare gli effetti della terapia sostitutiva (20).

Noi suggeriamo di valutare i livelli plasmatici delle citochine espresse da linfociti Th1 e Th2, rispettivamente IFN- $\gamma$ , IL-12, e IL-4, IL-10, al fine di inquadrare sul piano fisiopatologico l'eventuale alterazione del sistema immunitario nel corso di sindromi da poliabortività ricorrente, di preeclampsia e sindromi gestosiche (Tabella V).

**Tabella V.** Monitoraggio di laboratorio della gravidanza

---

#### Gravidanza fisiologica

Valutazione delle popolazioni linfocitarie mediante citofluorimetria (CD)

- T CD8<sup>+</sup> CD11<sup>+</sup>
- NK CD 16<sup>+</sup> CD54<sup>-</sup>

#### Gravidanza patologica

Valutazione delle popolazioni linfocitarie

Dosaggio delle Citochine mediante immunoenzimatica

- IL-2, IL-2R, IL-12, IFN- $\gamma$
  - IL-10, IL-4, TGF- $\beta$
-

## Conclusioni

La differenza fondamentale tra il feto ed il trapianto di un organo solido non consiste nella capacità del sistema immunitario di riconoscere gli alloantigeni fetali e di attivare una risposta nei loro confronti, ma piuttosto nel tipo di risposta "flogistica" che viene attivata dall'immunità naturale. Si crea un ambiente nel quale non si attivano cellule T funzionali al rigetto. Per contro nel trapianto gli alloantigeni tissutali sono riconosciuti dalle cellule APC e presentati ai linfociti T. L'attivazione di questi linfociti e la loro espansione clonale e maturazione dà luogo a linfociti Tc, Th1 e Th2. L'interazione con i linfociti B amplifica la risposta, induce la presenza di una componente anticorpale e contribuisce al rigetto del trapianto. Nella gravidanza fisiologica, oltre al controllo dei meccanismi descritti, che non sono mai del tutto attivati, esistono altri due meccanismi di controllo: (i) una peculiare controregolazione dei Th2 sui Th1 e su Tc; (ii) la presenza di linfociti Tn ("naive") materni nei tessuti fetali.

Lo studio, ad oggi attuabile, di questi parametri immunologici da parte del laboratorio potrà consentire di interpretare in chiave patogenetica e di prevenire, con adeguata terapia, l'evoluzione di gravidanze a rischio e di alcune forme di poliabortività.

## Bibliografia

1. Medawar PB. Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp Soc Exp Biol* 1953; 7: 320-8.
2. Mellor AL, Munn DH. Immunology at the maternal-fetal interface: lessons for T cell tolerance and suppression. *Ann Rev Immunol* 2000; 18:367-91.
3. Robertson SA, Mau VJ, Hudson SN, Tremellen KP. Cytokine-leukocyte networks and the establishment of pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1997; 37: 438-42.
4. Kanai T, Fujii T, Unno N, Yamashita T, Hyodo H, Miki A, Hamai Y, Kozuma S, Taketani Y. HLA-G expressing cells differently modulate the release on cytokines from mononuclear cells present in the decidua versus peripheral blood. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 2001; 45:94-9.
5. Watanabe M, Iwatani Y, Kaneda T, Hidaka Y, Mitsuda N, Morimoto Y, Amino N. Changes in T, B and NK lymphocyte subsets during and after normal pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1997; 37: 368-77.
6. Sakara KM, Sakara A, Kong L, Dang H, Talal N. Role of Fas/FasL interaction in physiology and pathology: the good and the bad. *Clin Immunol Immunopathol* 1998; 87:1-7.
7. Weetman AP. The immunology of pregnancy. *Thyroid* 1999; 9: 643-6.
8. Moore AG, Brown DA, Fairlie WD, Bauskin AR, Braun PK, Munier ML, Russel PK, Salamonsen LA, Wallace EM, Breit SN. The transforming growth factor-ss superfamily cytokine macrophage inhibitory cytokine-1 is present in high concentration in the serum of pregnant women. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4781-8.
9. Fairlie WD, Moore AG, Bauskin AR, Russel PK, Zhang HP, Breit SN. MIC-1 is a novel transforming growth factor-beta superfamily cytokine associated with macrophage activation. *J Leukoc Biol* 1999; 65:2-5.
10. Garcia-Lloret MI, Winkler-Lowen B, Guilbert LJ. Monocyte adhering by LFA-1 to placental syncytiotrophoblasts induce local apoptosis via release of TNF-alfa. A model for hematogenous initiation of placental inflammation. *J Leukoc Biol* 2000; 68: 903-8.
11. Reid JG, Simpson NA, Walker RG, Economidou O, Shillito J, Gooi HC, Duffy SR, Walker JJ. The carriage of proinflammatory cytokine gene polymorphisms in recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2001; 45:35-40.
12. Tsuda H, Michimata T, Sakai M, Nagata K, Nakamura M, Saito S. A novel surface molecule of Th2 and Tc2 type cells, CRTH expression on human periferal and decidual CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells during the early stage of pregnancy. *Clin Exper Immunol* 2000; 123: 105-11.
13. Nasu K, Sugano T, Fujisawa K, Arima K, Narahara H, Mijakawa I. Effects of IL-4 on the in vitro production of cytokines by human endometrial stromal cells. *Mol Hum Reprod* 2001; 7: 265-70.
14. Prabhala RH, Wira CR. Sex hormone and IL-6 regulation of antigen presentation in the female reproductive tract mucosal tissues. *J Immunol* 1995; 155: 5566-73.
15. Weiss G. Endocrinology of parturition. *J Clin End Met* 2000; 85 (12): 4421-5.
16. Luthy DA. Maternal markers and complication of pregnancy. *N Engl J Med* 1999; 341 (27): 2085-7.
17. Broughton Pipkin F. Risk factors for preeclampsia. *N Eng J Med* 2001; 344 (12): 925-6.
18. Livingston JC, Chin R, Haddad B, McKinney ET, Ahokas R, Sibai BM. Reduction of vascular endothelial growth factor concentrations in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 1554-7.
19. Buscher U, Chen FC, Pitzan A, Menon R, Vogel M, Obladen M, Dudenhausen JW. IL-1 beta, IL-6, IL-8 and G-CSF in the diagnosis of early-onset neonatal infections. *J Perinat Med* 2000; 28: 383-8.
20. Rossio JL, Rager HC, Goundry CS, Crisp EA. Cytokine testing in clinical trial monitoring. In NR Rose, E De Macario, J Fahey, H Friedman, GM Penn (eds.) *Manual of Clinical laboratory immunology*, pp.942-47, ASM, Washington D.C. 1997, V ed.