

Estado actual del estudio de las células NK en pacientes infértiles

Current study of nk cells NK in infertile patients

Aurea García Segovia¹, Silvia Sanchez-Ramón²

¹Unidad de Reproducción Asistida Sanitas. Centro Médico Milenium Alcobendas. ²Departamento de Inmunología Clínica. Hospital Clínico San Carlos.

RESUMEN

Las técnicas de reproducción asistida (TRA) se han convertido en una esperanza importante para muchas parejas que no pueden tener descendencia. A pesar de los avances realizados tanto desde el punto de vista técnico como en las tasas de éxito, todavía persiste un porcentaje significativo de parejas que no logran el embarazo o lo pierden.

Existe una creciente evidencia de que ciertas alteraciones inmunológicas pueden estar implicadas en la fisiopatología de la infertilidad

La mayoría de la información disponible se basa en estudios realizados en pacientes con Fallo Reproductivo Recurrente (FRR), término amplio que incluye abortos de repetición (AR) y fallos de implantación (FI). En estos pacientes se encuentran diferencias en ciertos parámetros inmunológicos con respecto a los controles fértiles.

Las alteraciones inmunológicas más frecuentemente descritas relacionadas con infertilidad son: autoinmunidad, desequilibrio Th1 / Th2, expansión de las células naturales asesinas (NK), los receptores (KIR) de NK y su combinación con ciertos HLA embrionarios.

La expansión tanto del número, porcentaje o actividad de las células NK representa un factor de riesgo en FRR, destacando el papel de estas células en la tolerancia materno-fetal.

Se han propuesto varias terapias inmunomoduladoras en pacientes con FRR de causa inmunológica con distinto grado de evidencia clínica.

Las infusiones de inmunoglobulina intravenosa (IgIV) se han utilizado durante mucho tiempo en la pre-

Aceptado 3/2/15

Correspondencia: Aurea García Segovia.

Unidad de Reproducción Asistida Sanitas. Centro Médico Milenium Alcobendas.

Bulevar Salvador Allende nº2, 28108. Alcobendas. Madrid, España. Tel: +34 91 7165820.

E-mail: agarciaseg@sanitas.es

SOLICITUD REIMPRESIÓN: Email: editorialmedica@editorialmedica.com

vención de abortos espontáneos de causa inmunológica, ya sea de forma única o en combinación con otros agentes inmunomoduladores.

Una adecuada selección de las pacientes en base a sus alteraciones inmunológicas es crítica para que el tratamiento inmunomodulador resulte efectivo aunque existen estudios sin criterios inmunológicos de selección.

En la gestación los factores inmunológicos, hematológicos y hormonales juegan un papel relevante. Es necesario consolidar estos conceptos mediante ensayos clínicos y así ser capaces de estandarizar tanto la evaluación como la interpretación de las pruebas inmunológicas.

(Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2015; 32; 10-18 © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

Palabras clave: *Células NK, Aborto de Repetición, Fallo de Implantación, Inmunomodulación.*

SUMMARY

Assisted reproduction techniques (ART) have become an important hope to many couples not able to have progeny. Though increasingly successful and technical advances, a significant proportion of couples fail to conceive or lose their pregnancies.

There is a growing evidence of the role of several immunological disorders that may be involved in the pathophysiology of infertility.

Most of the information available in this respect is based on studies in patients with recurrent reproductive failure (RRF), a broad term that includes recurrent miscarriages (RM) and repeated implantation failures (RIF) after in vitro fertilization (IVF). Several authors report alterations in certain immune parameters in these patients as compared with healthy fertile controls.

More frequently changes described in various immune related infertility factors such as autoimmune pathology, Th1 / Th2 imbalance, expansion of natural killer cells (NK) and killer Ig-like receptors (KIRs) and HLA embryo matching have been described.

Expanded counts, percentages and activity of NK cells represents a risk factor, highlighting the role of these cells in the maternal tolerance to the fetus.

Various immunomodulatory therapies have been proposal in patients with RRF of immunological cause with different clinical evidence.

Intravenous Immunoglobulin (IVIg) preparations have been used for a long time in the prevention of miscarriages of immunological cause, either alone or in combination with other immunomodulatory agents.

Selection criteria of the patients by the immune alteration is critical in order to test the effectiveness of IVIg therapy although there are some studies in patients without any immune selection criteria.

Immunological as well as hematological or hormonal factors play a relevant role in gestation. There is an urgent need of consolidating these data with clinical trials and of standardizing both the evaluation and interpretation of immunological tests.

(Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2015; 32; 10-18 © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

Key words: *NK cells, Recurrent Miscarriage, Implantation Failure, Immunomodulation.*

INTRODUCCION

El descenso de la tasa reproductiva constituye, hoy en día, un problema real en los países desarrollados y por tanto, una prioridad las medidas encaminadas a su correcto diagnóstico y tratamiento. La inserción de la mujer en el mundo laboral y su desarrollo profesional han provocado un retraso en la edad de inicio de búsqueda de descendencia en la población general. Este retraso se acompaña de un incremento

en la dificultad para conseguir embarazo, requiriendo hasta el 15 % de las parejas ayuda médica según la Sociedad Española de Fertilidad (SEF).

Estas circunstancias han favorecido y alentado el desarrollo de las técnicas de reproducción asistida (TRA), cuya aplicación es responsable de alrededor del 3 % de los nacimientos en España (1).

Desde la aparición de las primeras técnicas hasta la actua-

lidad se han incrementado el número de pruebas diagnósticas y técnicas de laboratorio que nos permiten, por ejemplo, transferir aquellos embriones libres de alteraciones genéticas mediante diagnóstico genético preimplantacional (DGP), métodos de cultivo embrionario “*time lapse*” que nos ofrecen nuevas herramientas de decisión para la selección del mejor embrión basándonos no sólo en la morfología de forma puntual en el tiempo sino, en el desarrollo morfocinético, etc... En general, hemos incrementado el conocimiento de aquello que podemos controlar de forma exógena (gametos y embriones). En esta línea, conseguimos mejorar mucho los resultados de las TRA, aunque todavía siguen siendo poco eficientes desde el punto de vista de las tasas de embarazo (40 %).

Para que se produzca la implantación embrionaria y, el consiguiente embarazo, es necesaria la participación del embrión y del endometrio y, no cabe duda que el diálogo que se establece entre la madre y el embrión va a determinar el éxito o fracaso de las TRA.

El estudio y aplicación de diversas técnicas resulta mucho más sencillo sobre el componente embrionario. El abordaje del componente materno se ha iniciado de forma más tardía dada su complejidad y provocado probablemente, porque a pesar de que somos capaces de generar y seleccionar los mejores embriones, en ocasiones, ni el mejor embrión nos garantiza un embarazo con niño recién nacido sano.

El estudio de la receptividad endometrial, mutaciones en los factores de coagulación y trombofilias adquiridas, defectos en la fase lútea, etc..., son algunas de las determinaciones que se aplican actualmente con mayor o menor frecuencia en las unidades de reproducción asistida.

Los estudios de factores inmunológicos relacionados con infertilidad se conocen desde hace años, pero ha sido recientemente cuando han resurgido y son muchas las pacientes infértiles que solicitan este tipo de abordaje cuando inician TRA.

Existen controversias con respecto a estas determinaciones y a los tratamientos empleados en las pacientes. Hay dos posibles factores claves generadores de éstas:

- Habitualmente se describen alteraciones en marcadores inmunológicos en pacientes infértiles, por ejemplo, la presencia de un determinado autoanticuerpo o expansión/alteración de una determinada población de células linfoides. En la mayoría de los casos no somos capaces de relacionar directamente dicho hallazgo con el mecanismo responsable de la patología.

El sistema inmunitario presenta una enorme diversidad en componentes efectores y localizaciones y los mecanismos o rutas empleadas por estos resultan complejos. Deberíamos

pues considerar estas alteraciones como determinaciones de laboratorio útiles como marcadores para diagnosticar y evaluar el efecto de posibles terapias y no tratar de buscar el mecanismo patogénico que, en cualquier caso, desconocemos en la actualidad.

- En los múltiples estudios realizados en pacientes infértiles con alteraciones del sistema inmunitario, tanto la selección como los tratamientos empleados resulta altamente heterogénea. No existen, hoy en día, ensayos clínicos que permitan relacionar con grado de evidencia, estas alteraciones con la infertilidad ni el tratamiento con la resolución de la misma. Si hay, múltiples meta-análisis así como estudios observacionales en poblaciones importantes de pacientes en algunos casos, que arrojan claros mensajes a favor de una más que probable causa inmunológica asociada a los abortos de repetición y fallos de implantación recurrentes.

ALTERACIONES INMUNOLÓGICAS IMPLICADAS EN INFERTILIDAD

El embarazo “*per se*” resulta un acontecimiento fascinante desde el punto de vista inmunológico. El feto, en el mejor de los casos se comportaría como un semialoinjerto frente al cual se generarían anticuerpos frente a los antígenos paternos que podrían a priori atravesar la placenta e inducir el fallo reproductivo. Sabemos, por estudios en sueros de mujeres multíparas, que estos anticuerpos están presentes pero que, en la mayoría de los casos no suponen amenaza alguna para el feto (2).

Sir Peter Medawar en los años 50 estableció una hipótesis según la cual el útero resultaría ser un lugar inmunoprivilegiado libre de la sentencia “discernir lo propio de lo extraño y atacar esto último” definitoria del sistema inmunitario. Determinaba el lecho materno como algo inerte desde el punto de vista del reconocimiento inmunológico. Hoy en día sabemos que esto no es así y que, de hecho la interfase materno-fetal es un lugar inmunológicamente muy activo. Además, esa actividad parece ser esencial para el correcto desarrollo de la gestación.

Existen estudios en los que se generan ratones deplecionados de células NK y células T reguladoras y se comprueba que son incapaces de reproducirse, generándose aborto tras aborto. Cuando se trasplantan estas células en médula ósea de estos ratones se recupera la capacidad reproductiva (3).

El grueso de la información de los factores inmunológicos relacionados con infertilidad que conocemos hoy en día se basa, sobre todo, en estudios realizados en pacientes con fallo reproductivo recurrente en las que se encontraban alteraciones en parámetros con respecto a controles fértiles (4-6).

Se define fallo reproductivo recurrente como la suma de dos entidades aparentemente distintas pero con una probable etiología común que permite englobar a estas pacientes bajo la misma etiqueta (7).

Por una parte, los abortos de repetición, es decir, pérdidas gestacionales espontáneas en al menos 3 embarazos por debajo de la semana 20 o los 400 g de peso; y por otra, el fallo de implantación recurrente, definido con variabilidad según criterios como el número de embriones transferidos y el origen de esos embriones, pero en general entendido como el fracaso en la obtención de un embarazo exitoso tras realizar al menos 3 transferencias de 2 embriones de buena calidad en cada una de ellas (8, 9).

En la mayoría de los casos la causa radica en la genética del embrión, existen causas endocrinas, anatómicas, infecciosas, etc... En un 40-50 % de los casos la causa es de origen incierto. Se estima que el factor inmunológico es responsable de la etiología de la pérdida gestacional recurrente en el 70-80 % de estos casos (10-12).

Las alteraciones inmunitarias más frecuentemente relacionadas con infertilidad son:

AUTOINMUNIDAD

Cada vez es más común encontrar pruebas para el despistaje de patología autoinmune dentro del perfil de estudio básico de infertilidad que se solicita a la paciente que consulta por deseo reproductivo. Las enfermedades autoinmunes son mucho más frecuentes en la mujer que en el varón y, sobre todo durante la edad fértil. Además, estas patologías suelen ser concomitantes y se presentan con mayor frecuencia en mujeres infértiles que en controles sanos (13,14).

Las alteraciones autoinmunes más ampliamente estudiadas son los anticuerpos anti fosfolípidicos.

El síndrome antifosfolípido es aceptado por las sociedades médicas como primer causante de abortos recurrentes (hasta 15 %-25 % según las series) y de fallo de implantación recurrente (hasta un 45 %) (15).

Se estima que alrededor de un 10-20 % de las mujeres con abortos de repetición presentan anticuerpos antifosfolípidos positivos y que si no se trata el 90 % de ellas abortará de nuevo. No se conoce cuál es el mecanismo patogénico exacto de estos anticuerpos pero se sabe que provocan la formación de coágulos, afectando a la placentación precoz y a la invasión de trofoblasto, induciendo activación del complemento (16-18).

También se han descrito otros autoanticuerpos relacionados con infertilidad:

·ANA: Se han encontrado hasta en el 7 % de las pacientes con abortos de repetición sin otra causa (19, 20). Se desconoce el mecanismo responsable.

·Ac anti-tiroideos: Presentes en hasta el 25 % de las mujeres con abortos de repetición. Pueden encontrarse incluso en pacientes eutiroideas y su presencia se correlaciona directamente con un incremento en el riesgo de aborto (OR 5.4, 95 % CI) (21, 22).

·Anticuerpos asociados a enfermedad Celíaca. Esta patología autoinmune puede ocurrir de forma silente y se ha asociado la enfermedad celíaca no diagnosticada con un incremento en el riesgo de infertilidad. La instauración de una dieta libre de gluten podría, en estas pacientes, mejorar su pronóstico reproductivo (23).

DISBALANCE RESPUESTA TH1/TH2

Clásicamente se ha descrito que para que el embarazo sea posible, desde el punto de vista inmunológico, debe existir una tolerancia inmunológica característica de una respuesta de citoquinas de tipo Th2 (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13). Por el contrario, en pacientes con abortos de repetición se encuentra un perfil de respuesta pro-inflamatorio de tipo Th1 y Th17 (IL-2, IFN-factor de necrosis tumoral (TNF), IL-17) (24, 25).

No obstante, parece que ambos tipos de respuesta son importantes en las distintas fases del embarazo de forma que en el momento de la implantación, es necesaria una cierta actividad pro-inflamatoria al igual que en el desencadenamiento del parto, mientras que las fases intermedias del embarazo son, características de respuesta tolerante Th2. Estos cambios en los perfiles de citoquinas en cada fase son controlados por las células T reguladoras (Treg) que se incrementan durante el embarazo reclutándose en la interfase materno-fetal (26).

EXPANSIÓN DE CÉLULAS NATURAL KILLER

Las células NK se han situado en el centro del foco de la Inmunología Reproductiva en los últimos años. Existen numerosos estudios que describen incrementos tanto en el porcentaje como en la actividad de estas células en mujeres con abortos y fallos de implantación con respecto a los controles fértiles (27-32).

También se han descrito distintas terapias en dichas pacientes cuya finalidad es inmunomodular las situaciones pro-inflamatorias generadas por estas células. No obstante, a día de hoy no existe un consenso a este respecto (33-36).

Parte de la confusión en este tema radica en la heterogenei-

dad de los ensayos de los distintos tratamientos disponibles y, sobre todo en la inadecuada selección de las pacientes candidatas a estas terapias en muchos de los casos.

SUBPOBLACIONES NK RELEVANTES EN INFERTILIDAD

Las células NK por definición pertenecen a la inmunidad innata. Presentan un marcador de superficie característico que es CD56 y, a diferencia de las células T carecen de CD3 en su membrana. El 90 % de las células NK de sangre periférica expresan CD56 de media intensidad (CD 56^{dim}) y tienen alta expresión de CD 16 (receptor para Fc de IgG), están cargadas de gránulos que contienen proteínas implicadas en la actividad lítica de estas células y también una porción discreta de citoquinas. Estas células suponen alrededor de un 10 % del los linfocitos totales en sangre periférica (37). Su función es la defensa frente a células tumorales e infectadas bien por citotoxicidad directa o mediante mecanismos pro-apoptóticos. Incrementos en el porcentaje o actividad citotóxica de estas células se han correlacionado con fallo gestacional recurrente (27-32).

En el endometrio las células NK son la población linfoide mayoritaria y suponen hasta un 70 % de los leucocitos en decidua. Estas células NK poseen un inmunofenotipo diferente a las NK mayoritarias de sangre periférica y también difieren en sus habilidades (38, 39).

Expresan CD56 con alta intensidad (CD56^{Bright}) y carecen de CD16 en su membrana. Tienen mucha menor actividad citotóxica y, sin embargo, son grandes productoras de citoquinas. Es por esto que se entiende que estas células están más implicadas en regulación del ambiente inmunológico circundante, si bien es cierto que bajo los estímulos necesarios son capaces de ejercer su función citotóxica como células NK in vitro. Se sabe que estas células se expanden durante el ciclo menstrual, alcanzando un máximo en el período implantacional (40-42).

No está claro cuál es el origen de estas células NK uterinas, si se trata de una subpoblación especial y única de células NK que se genera en médula ósea y viaja al útero donde se localizan o si se trata de células NK sanguíneas que una vez trasladadas al endometrio serían capaces de cambiar su fenotipo y función.

Parece que estarían implicadas en el control de la invasión del trofoblasto y en el proceso de angiogénesis necesario para estimular el crecimiento del mismo (43-46).

Existe una población de células NK denominadas NK-T ya que comparten el antígeno CD3 con las células T que también han demostrado ser relevantes desde el punto de vista reproductivo.

CELULAS NK EN FALLO REPRODUCTIVO

Compatibilidad KIR-HLA

La interfase materno-fetal es un sitio de reconocimiento inmunológico especial. Las células del trofoblasto no producen moléculas de HLA clásico (I y II), como ocurre en todas las células nucleadas del organismo, sino que expresan HLA-C, G y E. Estas moléculas poseen sus receptores en las células inmunes maternas y, la interacción entre el antígeno y el receptor generará una respuesta por parte de las células inmunes maternas que, en el peor de los casos, podría ser fatal para la supervivencia del embrión.

Los receptores de las células NK que van a reconocer el HLA-C son los denominados KIRs. Estos receptores pueden ser activadores o inhibidores. La función celular vendrá determinada por el equilibrio que se produzca entre las distintas señales que reciba la célula por parte de los receptores activadores e inhibidores. Por regla general, suele predominar la respuesta inhibitoria pero se sabe que existen ciertas combinaciones de KIR-HLA que pueden llegar a ser altamente activadoras. Estas combinaciones se han encontrado en parejas de pacientes con fallos reproductivos (47-49).

El estudio de los haplotipos HLA paternos y los receptores KIR maternos es viable y se utiliza como herramienta diagnóstica en algunos casos en los que la sospecha de causa inmunológica de la infertilidad así lo requiere.

Estudio de la expansión de células NK en pacientes con fallo reproductivo

A priori, podría parecer más directo y relevante el estudio de la población de células NK uterinas pero, aunque en los últimos años se está incrementando el conocimiento sobre estas células, siguen presentándose algunos inconvenientes tanto técnicos como de conceptos que debemos solventar antes de utilizar con garantías su cuantificación para el diagnóstico del fallo reproductivo de origen inmunológico y la aplicación de terapias inmunes para revertir esta situación. Estos inconvenientes son:

- Sabemos que existen variaciones dentro del ciclo menstrual con respecto a las células NK endometriales. También, parece claro que existen diferencias interciclo (50) y, por lo tanto, aunque la mayor parte de los estudios emplean muestras obtenidas en la fase lútea, en la supuesta ventana de implantación, no parece definido hasta el momento el punto clave para realizar la determinación.
- Desde el punto de vista de laboratorio, disponemos de dos técnicas para la cuantificación de estas células y

ambas presentan inconvenientes metodológicos a la hora de arrojar resultados objetivos con respecto a este parámetro. Por una parte, el procesamiento del tejido previo a la citometría de flujo puede alterar el propio tejido y parte de las células afectando al resultado. Por otra parte, la inmunohistoquímica no deja de ser un método bastante subjetivo y depende en mucho del observador.

- Resulta mucho más invasivo realizar una biopsia endometrial para el estudio de las células NK y en ningún caso podríamos tener una medición posterior al inicio del ciclo en el que se intentará embarazo ni monitorizar que ocurre con estas células en las fases tempranas de embarazo o después para tener un control sobre la acción de los posibles tratamientos inmunomoduladores.

Como herramienta diagnóstica, la determinación de células NK en sangre periférica resulta mucho más objetiva y reproducible que la cuantificación en endometrio por varias razones:

- Se ha definido una consistencia de los resultados obtenidos en mediciones realizadas en pacientes sanas en varios puntos dentro del ciclo menstrual y no se han encontrado diferencias en la cuantificación de las células NK por lo que la determinación es válida independientemente de la fase del ciclo en la que se encuentre la mujer (51).
- El estudio de la subpoblación de células NK en sangre periférica se realiza mediante citometría de flujo multiparamétrica como estudio rutinario en multitud de laboratorios de inmunología de forma objetiva y absolutamente reproducible.
- Es mucho menos invasivo como método diagnóstico y nos permite monitorizar lo que ocurre en el mismo momento del tratamiento y después durante el embarazo.

Debido a estas ventajas técnicas y operativas existen muchos más estudios publicados sobre esta subpoblación celular y se ha definido el valor normal en pacientes sanas (<12 %) (52).

Recientes investigaciones muestran que la expansión de NK en sangre periférica supone un factor de riesgo independiente de la edad para padecer un nuevo fallo reproductivo. Además se ha elaborado mediante herramientas estadísticas un árbol de decisión (mediante regresión logística multivariante) con respecto a los valores a tener en cuenta en pacientes con pérdida gestacional que nos permite conocer el riesgo para una nueva pérdida según el porcentaje en sangre periférica de estas células NK y la edad de la paciente (51),

que resultaron los únicos biomarcadores de riesgo independiente. (Tabla 1).

En la Tabla 1 se muestra que existen distintos nodos con riesgos calculados de tal forma que una paciente con menos de 35 años y un porcentaje de células NK totales en sangre periférica superior al 24 % (o NK CD56+CD16+ >22 %) tendría un 100 % de probabilidad de que se repitiera dicho fallo. Y en el caso de pacientes por encima de los 35 años el porcentaje de células NK disminuye hasta el 18 % (13 %> NK CD56+ CD16+)

TERAPIAS IMMUNOMODULADORAS

Existen múltiples estudios a cerca del empleo de terapias inmunomoduladoras en pacientes con abortos y fallos de implantación recurrentes de causa inmunológica. Gamma globulinas intravenosas (GGIV), corticoides, anti-TNF (TNF- α), intralípidos intravenosos, GM-CSF (granulocyte colony stimulating factor), PF (preimplantation factor) y suplementación con vitamina D. No existen ensayos clínicos actualmente para ninguna de estas terapias (60).

Por otro lado, podemos encontrar en la literatura varias revisiones en las que descartan del análisis muchos de los estudios con estas terapias por poco consistentes en cuanto al número de casos, la heterogeneidad de las muestras y de los protocolos terapéuticos y el empleo de varios fármacos de forma simultánea.

En el caso concreto del tratamiento con GGIV, se trata de unas infusiones utilizadas desde hace más de 25 años durante el embarazo en el contexto de patologías autoinmunes, inmunodeficiencias o enfermedades inflamatorias (53-57).

Se trata de producto hemoderivado altamente purificado de inmunoglobulina G que cumple con los más estrictos criterios de bioseguridad y que contiene un amplio abanico de anticuerpos que actúan como un inmunoregulador potente suprimiendo las poblaciones celulares más proinflamatorias (células B y NK-T, Th1 y Th17) favoreciendo la acción de las Treg y, por lo tanto, generándose un ambiente inmunológico mucho más tolerante, desviando el equilibrio inmune hacia una respuesta de tipo Th2 (58-63).

Con respecto a la población de células NK, se ha visto que las pacientes tratadas con GGIV disminuyen sus porcentajes de células NK y la actividad citotóxica de las mismas (63).

En un estudio observacional reciente analizamos 428 pacientes con diagnóstico de fallo reproductivo recurrente (217 con abortos de repetición y 211 con fallo de implantación recurrente). En estas pacientes se realizó estudio de subpoblaciones NK identificándose aquellas con expansión de células NK. El tratamiento inmunomodulador empleado

TABLA 1

En la tabla se muestra el modelo resultante del estudio de una población de 318 mujeres con FRR, capaz de predecir el riesgo de una paciente de sufrir un aborto en base a su edad y su cuantificación de células NK totales y dobles positivas (CD56+, CD16+).

Según este modelo:

El riesgo de la población general de sufrir una posible pérdida fetal es del 10% .En el caso de ser una mujer menor de 35 años el riesgo disminuye al 4,4%.

Aparecen tres posibles grupos

1º que la paciente tenga menos del 13% de NK o menos del 11% de células dobles positivas en ese caso el riesgo sufrir perdida gestacional es del 2,5%.

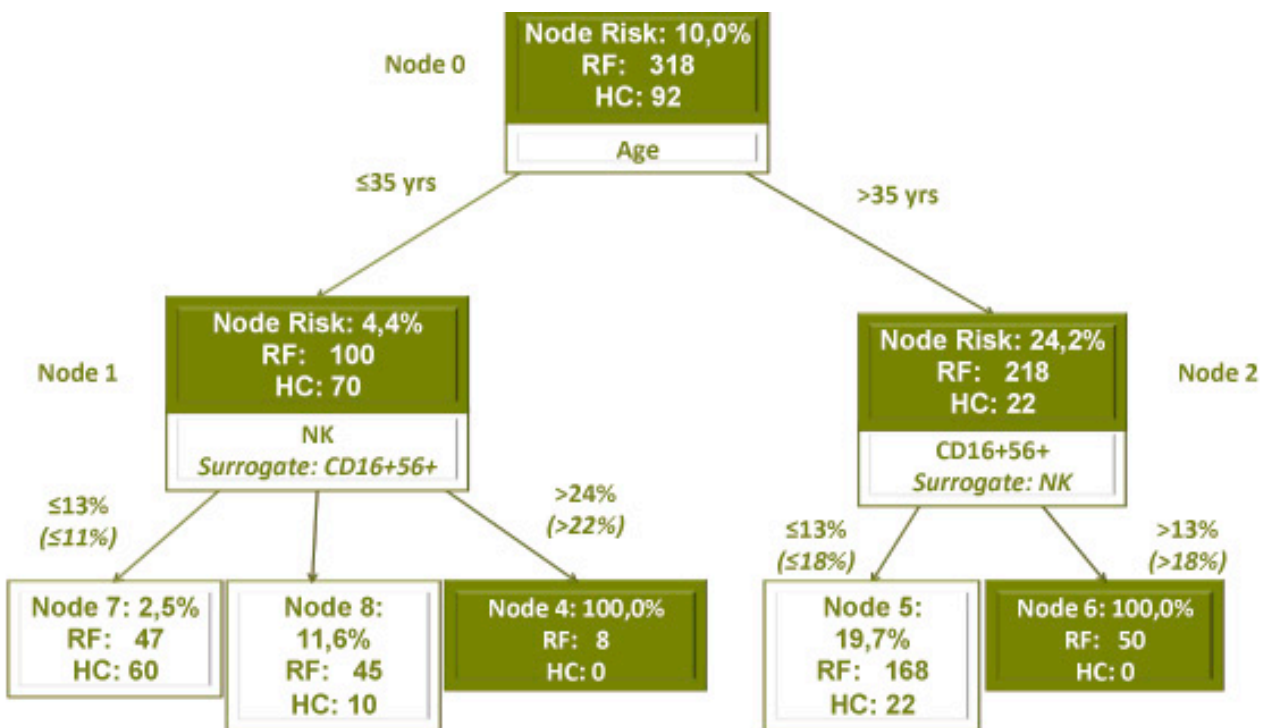
2º que la paciente presente entre un 13 y 24% de NK totales o un 11-22% de dobles positivas en este grupo de pacientes el riesgo es ligeramente superior a la población general 11,6%.

3º que nuestra paciente tenga más del 24% de células NK o 22% de dobles positivas en este caso el riesgo es del 100%.

Si la edad de la paciente es > 35 el riesgo de sufrir futura pérdida gestacional es del 24%.

Si presenta menos del 13% de dobles positivas o menos del 18% de NK totales el riesgo es del 19,75.

Si por el contrario presenta más del 13% de dobles positivas o más del 18% de NK totales el riesgo pasa a ser del 100%.



| Terminal Node | Node Risk | Accumulative (when adding the line's node to the positive prediction) | | | | | |
|---------------|-----------|---|-------|-------|------------------------|---------------------|-------|
| | | Error rate | PPV | NPV | Odds ratio | Confidence Interval | |
| 7 | 2.5% | 90% | 10% | No NP | No negative prediction | | |
| 8 | 12.6% | 32.8% | 21.4% | 97.5% | 10.81 | 6.37 | 18.35 |
| 4 | 100% | 8.2% | 100% | 91.7% | No false positive | | |
| 5 | 19.7% | 24.4% | 24.8% | 95.9% | 7.82 | 4.57 | 13.37 |
| 6 | 100% | 8.4% | 100% | 91.4% | No false positive | | |

fueron infusiones de GGIV a dosis bajas. En el caso del grupo de las abortadoras se obtuvo una tasa de recién nacido vivo del 96,3 % y en el grupo de las pacientes con fallo de implantación la tasa de gestación fue de un 93,8 % en las tratadas con GGIV frente a un 26,2 % en las pacientes no tratadas. Si bien se trata de un estudio observacional con las limitaciones que ello conlleva, la alta tasa de éxito gestacional indica la necesidad de realizar un ensayo clínico en pacientes seleccionadas por el criterio inmunológico.

CONCLUSIONES

Parece más que evidente que existen desregulaciones en el sistema inmunitario materno que pueden asociarse al fallo reproductivo recurrente. Cada día conocemos nuevos parámetros inmunológicos que podemos testar y también disponemos de tratamientos inmunomoduladores para tratar de revertir estas situaciones que interfieren con la normal placentación y con la supervivencia del embrión.

En ocasiones en ciencia, sobre todo en especialidades médicas que evolucionan a pasos agigantados como la reproducción asistida, se emplean tratamientos de forma empírica sin realizar los estudios preliminares necesarios para disponer de la suficiente evidencia científica como para pautarlos sin recelo. La indicación de estos tratamientos sin el criterio adecuado y sin la selección adecuada del paciente convierte a esta herramienta tan poderosa de control del sistema inmunitario en un absoluto fracaso ya que, además de no lograr el fin terapéutico el tratamiento, puede resultar económicamente muy costoso.

Es esencial que las unidades de reproducción asistida como centros multidisciplinarios que son aúnen el conocimiento y la experiencia de ginecólogos, embriólogos, hematólogos, inmunólogos y endocrinólogos en mejorar el éxito gestacional de pacientes con fallo reproductivo recurrente y la calidad de vida de estas parejas. Ello redundaría además en la reducción de los costes asociados al fallo reproductivo recurrente.

BIBLIOGRAFÍA

- Sociedad Española de Fertilidad.** Libro blanco sociosanitario: La Infertilidad en España situación actual y perspectivas. Madrid. 2011.
- Beaman KD, Ntrivalas E, Mallers TM, Jaiswal MK, Kwak-Kim J, Gilman-Sachs A.** Immune Etiology of Recurrent Pregnancy Loss and Its Diagnosis. *Am J Reprod Immunol.* 2012 Apr; 67(4):319-25.
- Christiansen OB.** Reproductive immunology. *Mol Immunol.* 2013 Aug; 55(1):8-15.
- Kwak-Kim JY, Chung-Bang HS, Ng SC, Ntrivalas EI, Mangubat CP, Beaman KD, Beer AE, Gilman-Sachs A.** Increased T helper 1 cytokine responses by circulating T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple implantation failures after IVF. *Hum Reprod.* 2003 Apr; 18(4):767-73.
- Piccinni MP.** T cells in normal pregnancy and recurrent pregnancy loss. *Reprod Biomed Online.* 2006 Dec; 13(6):840-4.
- Kwak-Kim J, Park JC, Ahn HK, Kim JW, Gilman-Sachs A.** Immunological modes of pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol.* 2010 Jun; 63(6):611-23.
- Makrigiannakis A., Petsas G., Toth B., Relakis K., and Jeschke U.** Recent advances in understanding immunology of reproductive failure. *J Reprod Immunol.* 2011 Jun; 90(1): 96-104.
- Margalioth, E.J., Ben-Chetrit, A., Gal, M., and Eldar-Geva, T.** Investigation and treatment of repeated implantation failure following IVF-ET. *Hum Reprod.* 2006 Dec; 21(12): 3036-3043.
- Timeva T, Shterev A, Kyurkchiev S.** Recurrent Implantation Failure: The Role of the Endometrium. *J Reprod Infertil.* 2014 Oct; 15(4):173-183.
- Ford HB, Schust DJ.** Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. *Rev Obstet Gynecol.* 2009 Spring; 2(2):76-83.
- Rai, R., Regan, L.** Recurrent miscarriage. *Lancet* 2006 Aug; 12(368): 601-611.
- Kwak-Kim, J., Yang, K.M. & Gilman-Sachs, A.** Recurrent pregnancy loss: a disease of inflammation and coagulation. *J Obstet Gynaecol Res.* 2009 Aug; 35(4):609-22.
- Mitchell K, Kaul M, Clowse ME.** The management of rheumatic diseases in pregnancy. *Scand J Rheumatol.* 2010 Mar; 39(2):99-108
- Naganuma, M., Kunisaki, R., Yoshimura, N., Nagahori, M., Yamamoto, H. et al.** Conception and pregnancy outcome in women with inflammatory bowel disease: a multicentre study from Japan. *J Crohns Colitis.* 2011 Aug; 5 (4):317-23.
- Backos M, Rai R, Regan L.** Antiphospholipid antibodies and infertility. *Hum Fertil (Camb).* 2002 Feb; 5(1):30-4.
- García Segovia A., Rodríguez-Mahou M., Caballero P, Sánchez-Ramón S.** Antiphospholipid Autoantibodies in Women with Recurrent Gestational Failures – Controversies in Management. *Antiphospholipid Syndrome.* Dr. Alena Bulikova. 2012.
- Sauer R, Roussev R, Jeyendran RS, Coulam CB.** Prevalence of antiphospholipid antibodies among women experiencing unexplained infertility and recurrent implantation failure. *Fertil Steril.* 2010 May 1; 93(7):2441-3
- Keeling D, Mackie I, Moore GW, Greer IA, Greaves M.** Guidelines on the investigation and management of antiphospholipid syndrome. British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol.* 2012 Apr; 157(1):47-58.
- Ying Y, Zhong YP, Zhou CQ, Xu YW, Miao BY, Wang Q, Li J.** Preliminary investigation of the impact of anticentromere antibody on oocyte maturation and embryo cleavage. *Fertil Steril.* 2013 Dec; 100(6):1585-9
- Putowski L, Darmochwal-Kolarz D, Rolinski J, Oleszczuk J, Jakowicki J.** The immunological profile of infertile women after repeated IVF failure (preliminary study). *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004 Feb 10; 112(2):192-6.
- Van den Boogaard E, Vissenberg R, Land JA, Van Wely M, Van der Post JA et al.** Significance of (sub)clinical thyroid dysfunction and thyroid autoimmunity before conception and in early pregnancy: a systematic review. *Hum Reprod Update.* 2011 Sep-Oct; 17(5):605-19.
- Lazarus J, Brown RS, Daumerie C, Hubalewska-Dydejczyk A, Negro R et al.** European thyroid association guidelines for the management of subclinical hypothyroidism in pregnancy and in children. *Eur Thyroid J.* 2014 Jun; 3(2):76-94.
- Ludvigsson JF, Montgomery SM, Ekblom A.** Celiac disease and risk of adverse fetal outcome: a population-based cohort study. *Gastroenterology.* 2005 Aug; 129(2):454-63
- Halonon, M. et al.** Th1/Th2 patterns and balance in cytokine production in the parents and infants of a large birth cohort. *J Immunol.* 2009 Mar 1; 182(5):3285-93.
- Kwak-Kim, J., Lee, S.K., Gilman-Sachs, A.** Elevated Th1/Th2 cell

- ratios in a pregnant woman with a history of RSA, secondary Sjogren's syndrome and rheumatoid arthritis complicated with one fetal demise of twin pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 2007 Oct; 58(4):325-9.
26. **Jin, L.P., Chen, Q.Y., Zhang, T., Guo, P.F., Li, D.J.** The CD4+CD25 bright regulatory T cells and CTLA-4 expression in peripheral and decidual lymphocytes are down-regulated in human miscarriage. *Clin Immunol.* 2009 Dec; 133(3): 402-410.
 27. **Karami, N., Boroujerdnia, M.G., Nikbakht, R. & Khodadadi, A.** Enhancement of peripheral blood CD56 (dim) cell and NK cell cytotoxicity in women with recurrent spontaneous abortion or in vitro fertilization failure. *J Reprod Immunol.* 2012 Sep; 95(1-2): 87-92.
 28. **Yamada, H. et al.** Pre-conceptional natural killer cell activity and percentage as predictors of biochemical pregnancy and spontaneous abortion with normal chromosome karyotype. *Am J Reprod Immunol.* 2003 Oct; 50(4): 351-354.
 29. **Fukui, A. et al.** Uterine and circulating natural killer cells and their roles in women with recurrent pregnancy loss, implantation failure and preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2011 Jun; 90(1): 105-110.
 30. **Shakhar, K. et al.** High NK cell activity in recurrent miscarriage: what are we really measuring?. *Hum Reprod.* 2006 Sep; 21(9): 2421-2425.
 31. **Matteo, M.G. et al.** Normal percentage of CD56bright natural killer cells in young patients with a history of repeated unexplained implantation failure after in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril.* 2007 Oct; 88(4):990-3.
 32. **Tang, A.W., Alfirevic, Z. & Quenby, S.** Natural killer cells and pregnancy outcomes in women with recurrent miscarriage and infertility: a systematic review. *Hum Reprod.* 2011 Aug; 26(8): 1971-1980.
 33. **Raghupathy, R. et al.** Progesterone-induced blocking factor (PIBF) modulates cytokine production by lymphocytes from women with recurrent miscarriage or preterm delivery. *J Reprod Immunol.* 2009 Jun; 80(1-2): 91-99.
 34. **Coulam, C.B., Acacio, B.** Does immunotherapy for treatment of reproductive failure enhance live births? *Am J Reprod Immunol.* 2012 Apr; 67(4): 296-304.
 35. **Laskin, C.A. et al.** Prednisone and aspirin in women with autoantibodies and unexplained recurrent fetal loss. *N Engl J Med.* 1997 Jul; 337(3): 148-153.
 36. **Granato, D. et al.** Effects of parenteral lipid emulsions with different fatty acid composition on immune cell functions in vitro. *J Parenter Enteral Nutr.* 2000 Mar-Apr; 24(2):113-8.
 37. **Cooper, M.A., Fehniger, T.A. & Caligiuri, M.A.** The biology of human natural killer-cell subsets. *Trends in immunology.* 2001 Nov; 22(11): 633-640.
 38. **Manaster, I. et al.** Endometrial NK cells are special immature cells that await pregnancy. *J Immunol.* 2008 Aug; 1(181): 1869-1876.
 39. **Yagel, S.** The developmental role of natural killer cells at the fetal-maternal interface. *Am J Obstet Gynecol.* 2009 Oct; 201(4):344-50.
 40. **Bulmer, J.N. & Lash, G.E.** Human uterine natural killer cells: a reappraisal. *Mol Immunol.* 2005 Feb; 42(4):511-21.
 41. **Kitaya, K., Yamaguchi, T., Yasuo, T., Okubo, T., Honjo, H.J.** Post-ovulatory rise of endometrial CD16 (-) natural killer cells: in situ proliferation of residual cells or selective recruitment from circulating peripheral blood. *J Reprod Immunol.* 2007 Dec; 76(1-2): 45-53.
 42. **Loke, Y., King, A.** Immunology of human placental implantation: clinical implications of our current understanding. *Mol Med Today.* 1997 Apr; 3(4):153-9.
 43. **Vacca P, Moretta L, Moretta A, Mingari MC.** See comment in PubMed Commons below Origin, phenotype and function of human natural killer cells in pregnancy. See comment in PubMed Commons below Trends Immunol. 2011 Nov; 32(11):517-23.
 44. **Manaster, I., Mandelboim, O.** The unique properties of human NK cells in the uterine mucosa. *Placenta.* 2008 Mar; 29 Suppl A: S60-6.
 45. **Kopcow, H.D. et al.** Human decidual NK cells from gravid uteri and NK cells from cycling endometrium are distinct NK cell subsets. *Placenta.* 2010 Apr; 31(4):334-8.
 46. **Blois, S.M., Klapp, B.F., Barrientos, G.** Decidualization and angiogenesis in early pregnancy: unravelling the functions of DC and NK cells. *J Reprod Immunol.* 2011 Mar; 88(2):86-92.
 47. **Chazara, O., Xiong, S., Moffett, A.** Maternal KIR and fetal HLA-C: a fine balance *J Leukoc Biol.* 2011 Oct; 90(4):703-16.
 48. **Hiby, S.E. et al.** Maternal activating KIRs protect against human reproductive failure mediated by fetal HLA-C2. *J Clin Invest.* 2010 Nov; 120(11):4102-10.
 49. **Warning, J.C., McCracken, S.A., Morris, J.M.** A balancing act: mechanisms by which the fetus avoids rejection by the maternal immune system. *Reproduction.* 2011 Jun; 141(6):715-24.
 50. **Mariee N, Tuckerman E, Ali A, Li W, Laird S, Li TC.** The observer and cycle-to-cycle variability in the measurement of uterine natural killer cells by immunohistochemistry. *J Reprod Immunol.* 2012 Sep; 95(1-2):93-100.
 51. **Ramos-Medina R, García-Segovia Á, León JA, Alonso B, Tejera-Alhambra M et al.** New decision-tree model for defining the risk of reproductive failure. *Am J Reprod Immunol.* 2013 Jul; 70(1):59-68.
 52. **Seshadri S, Sunkara SK.** Natural killer cells in female infertility and recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2014 May-Jun; 20(3):429-38.
 53. **Ramos-Medina, R., Corbi, A.L., Sanchez-Ramon, S.** Intravenous immunoglobulin: immunomodulatory key of the immune system. *Med Clin (Barc).* 2012 Jun 30; 139(3):112-7.
 54. **Bussel, J.B., Hilgartner, M.W.** The use and mechanism of action of intravenous immunoglobulin in the treatment of immune haematologic disease. *Br J Haematol.* 1984 Jan; 56(1):1-7.
 55. **Bussel, J. et al.** Reversal of neutropenia with intravenous gammaglobulin in autoimmune neutropenia of infancy. *Blood.* 1983 Aug; 62(2):398-400.
 56. **Bayary, J. et al.** Intravenous immunoglobulin in autoimmune disorders: an insight into the immunoregulatory mechanisms. *Int Immunopharmacol.* 2006 Apr; 6(4):528-34.
 57. **Bayry, J., Lacroix-Desmazes, S., Kazatchkine, M.D., Kaveri, S.V.** Intravenous immunoglobulin for infectious diseases: back to the pre-antibiotic and passive prophylaxis era? *Trends Pharmacol Sci.* 2004 Jun; 25(6):306-10.
 58. **Coulam, C.B., Krysa, L.W., Bustillo M.** Intravenous immunoglobulin for in-vitro fertilization failure. *Hum Reprod.* 1994 Dec ; 9(12):2265-9.
 59. **Morarú, M. et al.** Intravenous immunoglobulin treatment increased live birth rate in a Spanish cohort of women with recurrent reproductive failure and expanded CD56 (+) cells. *Am J Reprod Immunol.* 2012 Jul; 68(1):75-84.
 60. **Bansal, A.S., Bajardeen, B. & Thum, M.Y.** The basis and value of currently used immunomodulatory therapies in recurrent miscarriage. *J Reprod Immunol.* 2012 Jan; 93(1):41-51.
 61. **Ruiz, J.E. et al.** Effect of intravenous immunoglobulin G on natural killer cell cytotoxicity in vitro in women with recurrent spontaneous abortion *J Reprod Immunol.* 1996 Aug; 31(1-2):125-41.
 62. **Kwak, J.Y., Kwak, F.M., Ainbinder, S.W., Ruiz, A.M. & Beer, A.E.** Elevated peripheral blood natural killer cells are effectively downregulated by immunoglobulin G infusion in women with recurrent spontaneous abortions. *Am J Reprod Immunol.* 1996 Apr; 35(4):363-9.
 63. **Ramos-Medina R, García-Segovia A, Gil J, Carbone J, Aguarón de la Cruz A et al.** Experience in IVIg therapy for selected women with recurrent reproductive failure and NK cell expansion. *Am J Reprod Immunol.* 2014 May; 71(5):458-66.