



Ginecología y Obstetricia

© Sociedad Peruana de Obstetricia y Ginecología

Ginecol. obstet. 1999; 45 (1) : 14 - 22

Inmunología de la implantación

José Pacheco

En el proceso de la reproducción, el óvulo fecundado es transportado hacia la cavidad uterina para su implantación en el endometrio. Conocíamos muy poco sobre cómo es el proceso en sí. Aunque su estudio aun no es posible en el ser humano, por investigación en primates y observaciones in vitro hoy conocemos que es un episodio de gran magnitud y complejidad, lo que nos lleva a la reflexión de lo difícil que es para un ser implantarse y sobrevivir para contarlo.

La implantación es un proceso progresivo en el que el embrión se aproxima y adhiere al endometrio materno, para invadirlo. Para que el blastocisto se fije al endometrio materno requiere de un endometrio receptivo, de un embrión normal y funcional en el estado de blastocisto y de un diálogo o comunicación cruzada entre estos dos organismos, que son diferentes inmunológica y genéticamente. La implantación natural del blastocisto humano generalmente tiene lugar entre los días LH +5 LH +9 días²⁶, completándose unos días después. En esta revisión, trataré de presentar los pasos sucesivos del blastocisto de acercamiento y penetración al endometrio.

La implantación del blastocisto se parece en alguna forma a la invasión de los tumores malignos, pues inmunológicamente hay una estrategia similar a la migración celular, se destruye algo del tejido del huésped, hay erosión vascular, nueva vascularización, cierto proceso de reparación y tolerancia de células antigénicamente extrañas. En forma parecida a las células tumorales, las células citotrofoblásticas humanas (CTB) son constitutivamente invasivas. Las CTB obtenidas de abortos segregan metaloproteinasas (MPMs), tales como las gelatinasas 72 y 92kDA, responsables de su poder invasivo. Mientras tanto, los inhibidores de las MPM llegan a abolir dicha invasividad. La invasión trofoblástica también es controlada por señales endometriales, efecto debido a citoquinas y otras proteínas deciduales, y por constituyentes de la matriz extracelular (MEC).

Fases de la implantación

En el proceso de la implantación se ha podido determinar las siguientes fases:3,14,22,28

- A. Fase de adherencia, en la cual se describe un proceso de aposición y otro de adhesión. En la aposición, las células trofoectodérmicas del blastocisto y las células epiteliales endometriales hacen contacto por sus membranas apicales, sin establecer conexiones visibles. En esta situación, el blastocisto puede ser separado por simple lavado de la cavidad uterina. La aposición ocurre 5 a 9 días después del pico de la LH. Mientras tanto, la adhesión ocurre el día 6 a 7 de la ovulación, y durante ella probablemente se establecen conexiones funcionales.
- B. Fase de penetración, en la que las CTB del blastocisto penetran la monocapa de células epiteliales por medio de proyecciones ectoplasmáticas delgadas, denominadas pinópodos, que se insinúan entre las células endometriales y rompen sus desmosomas. Se considera, a su vez, un proceso de fusión e intrusión, por el que el blastocisto es cubierto por el endometrio el día 12 de embarazo, y un proceso de invasión de los vasos uterinos, seguidos de un período de expansión o crecimiento.

Ventana de implantación

El momento preciso y breve en el que el endometrio se vuelve receptivo al trofoblasto es denominado ventana de implantación. Es el intervalo entre la llegada del blastocisto en expansión a la cavidad endometrial y el desarrollo de la zona decidual primaria¹¹.



En condiciones normales, el epitelio del endometrio que cuenta con una membrana basal varía con el ciclo menstrual y no tiene receptores de progesterona. Pero, durante un embarazo, el embrión ocasionaría una reacción local en el endometrio que modifica su producción de fluidos facilitadores y es posible que altere la histología y la fisiología endometriales. Los fluidos facilitadores pueden ser inmunorreguladores o nutricionales, hormonodependientes y no hormonodependientes. Todo esto ocurre los días 20 a 24 del ciclo.

La superficie luminal del endometrio es el primer blanco del embrión preparado (batched) para iniciar la nidación. El epitelio endometrial pierde la polaridad celular y modifica las relaciones célula a célula, la secreción de proteína específica y de glicoproteína, y la expresión de ligandos. Durante la ventana de implantación, se considera que las integrinas b3, a4 y a1 son marcadores potenciales de la receptividad uterina.

Preparación del endometrio

Las modificaciones del endometrio por efecto del estradiol y de la progesterona son dependientes de que los receptores respectivos se desarrollen en tiempos apropiados. Los receptores de estradiol (RE2s) y los receptores de progesterona (RPs) están presentes en las glándulas y en el estroma durante la fase folicular y tienen un pico inmediatamente antes de la mitad del ciclo. En la fase lútea desaparecen primero los RE2s y luego los RPs, aunque persisten los RPs en el estroma durante toda la fase lútea. El antagonista de RPs nifepristona y el antiestrógeno tamoxifeno disminuyen los RPs.

En la preparación del endometrio, el factor de crecimiento epidermal (EGF) mediaría la acción del estradiol (E2) sobre el endometrio y estimula la síntesis de ADN y de proteína por el estroma. El EGF es segregado conjuntamente con el factor inhibidor de leucemia (LIF) hacia lumen, influyendo en la secreción de MMPs por el blastocisto durante la implantación. El plasminógeno es activado por la uroquinasa del trofoblasto para crear plasmina, activando las MMPs por división proteolítica.

Las moléculas que tienen efecto sobre la receptividad uterina para la implantación del blastocisto incluyen las integrinas, el LIF, la interleuquina1 (IL1) y el factor estimulante de colonias1 (CSF1)18. El rol de la proteína placentaria 14 (PP14), de característica inmunosupresora, es especulativo; se sabe que actúa sobre la interleuquina6 (IL6), que hace crecer, diferencia y activa las células T. La IL1 actúa sinérgicamente con la IL6 sobre las células T y B.

La serie leucocítica migra y prolifera en el endometrio secretor, probablemente en respuesta a progesterona o a quimoquinas que están bajo control progesterónico. Está constituida principalmente por granulocitos grandes que expresan los marcadores del grupo diferenciado (CD) 56 de las células matadoras naturales (NK). Estas células positivas CD56 son seguidas de células T CD3 positivas, de los fenotipos CD4 (de ayuda/inductora) y CD8 (supresora/citóxica). También se observa macrófagos que expresan CD68 y CD11a durante la ventana de implantación, pero hay escasas células B CD14 positivas y ninguna célula plasmática30.

Decidualización

No existe reacción decidual cuando el embrión inicia la penetración. La reacción decidual perivascular aparece el día 23, cuando ya el embrión está en el estroma. El estroma inicia la producción de prolactina y su material extracelular limita la invasión. Las células decidualizadas, por secreción de glicoproteínas específicas, forman alrededor de cada una, una membrana basal, constituyendo así planos de resistencia a la invasión del CTB.

La reacción decidual alcanza la superficie endometrial el día 25 a 26, se forma la compacta el día 27 y se inicia la placentación. Las arterias espirales modifican la naturaleza del colágeno de sus paredes para permitir la invasión trofoblástica.

Adhesión

El trofoectodermo del blastocisto y el endometrio son epitelios formados por células polarizadas. Las células polarizadas tienen dos dominios de membrana: un dominio basolateral, que ancla tanto las células una a otra (por desmosomas y otras áreas especializadas) como a la membrana basal (por integrinas), y



un dominio apical, que exhibe microvellosidades, generalmente desprovistas de moléculas de adherencia. Los factores comprometidos en el proceso de adhesión son CSF1, LIF, IL1, EGF, que une heparán (HBEGF) y sus receptores respectivos. También incluyen miembros de la superfamilia de inmunoglobulinas ICAM 13 (CD54, CD102, CD50), VCAM (CD106), PECAM y Modcan1; miembros de la familia selectina, como selectina E (CD62E), selectina L (CD62L) y selectina P (CD62P) y otras moléculas, como la CD44 y subunidades de integrina, tanto alfa (colágeno y laminina) como beta (fibronectina y vitronectina)¹⁴.

Moléculas de adhesión

Como su nombre lo indica, las moléculas de adhesión permiten a las células unirse entre sí y con el sustrato. Las más conocidas son las cadherinas, las inmunoglobulinas, las selectinas y las integrinas. Las cadherinas y las selectinas son glicoproteínas de membrana de unión célula a célula, dependientes de calcio.

Las inmunoglobulinas también permiten la unión célula a célula, pero son calcio independientes. Las integrinas regulan principalmente (más no exclusivamente) las interacciones célulasustrato dependientes de calcio.

La glicoproteína lactoNfucopentaosa1 (LNF1) y los hidratos de carbono tienen rol en la adhesión del blastocisto en la rata. Los oligosacáridos, y especialmente los glicosaminoglicanos, estarían involucrados en la adhesión del blastocisto humano, que se uniría a la integrina $\alpha v\beta 3$ Y hay evidencia de que cadherina E (molécula de adhesión de la célula epitelial) y la integrina $\alpha 6\beta 1$ estarían involucradas en la adhesividad trofoblastocélula epitelial en el ser humano.

Integrinas

Las integrinas son receptores de adherencia célula a superficie expresados universalmente. Son heterodímeros α y β , dependiendo de la combinación α ó β , la integrina se unirá a una u otra glicoproteína matriz, p. ej., $\alpha 5\beta 1$ a fibronectina, $\alpha 2\beta 1$ a laminina. Ambas subunidades son glicoproteínas transmembrana, con un dominio citoplasmático corto, un segmento transmembrana único y un dominio extracelular grande.

Las integrinas son transductores que señalan la naturaleza del ambiente extracelular al interior de la célula. La señal es luego traducida en sucesos que permiten a la célula cambiar de forma, migrar, adherirse a otras matrices y liberar proteasas⁵. Las integrinas se aglomeran en áreas focales en la membrana celular, se fosforila la quinasa FAK 125 (quinasa de adherencia focal) y posiblemente se induce la transcripción del gen. A su vez, se modifica el microambiente de la célula, al cual se readapta alterando su repertorio de integrinas^{1,5}. Al estimularse la adhesión de una célula, se reduce su potencial invasivo,

El trofoblasto, y especialmente el CTB, también expresa integrinas. Las CTB modulan su repertorio de integrinas durante la invasión del endometrio. El CTB viloso consiste en células troncales inmóviles que descansan en una membrana basal villosa, y que expresan integrina $\alpha 6\beta 4$ (receptora de laminina) en forma agrupada hacia la membrana basal. Cuando estas células dejan el árbol viloso para formar columnas celulares de CTB, aún expresan integrina $\alpha 6\beta 4$, pero de manera no agrupada. La delocalización de $\alpha 6\beta 4$ probablemente permite al CTB volverse móvil e iniciar la invasión del endometrio.

El CTB localizado más profundamente en el endometrio decidualizado pierde su capacidad de expresar integrina $\alpha 6\beta 4$, pero expresa la integrina $\alpha 5\beta 1$ el mayor receptor de fibronectina. El CTB que ha invadido los vasos endometriales expresan otra integrina, la $\alpha 1\beta 1$, un receptor de colágeno. El CTB inicial, que expresa integrina $\alpha 6$, segrega más gelatinasa y menos fibronectina que la $\alpha 5$. Pero, ambas integrinas segregan cantidades similares de hGG⁵.

Citoquinas y factores de crecimiento

Las citoquinas son péptidos o glicoproteínas regulatorias que pueden ser producidas por prácticamente toda célula nucleada, con efectos regulatorios pleiotrópicos Sobre las células hematopoyéticas y otras. A diferencia de las hormonas, las citoquinas generalmente actúan como señales intercelulares (paracrinas) y/o intracelulares sobre el tejido local, y solo ocasionalmente se derraman en la circulación para actuar



como mediadores endocrinos²⁸. El endometrio humano es un sitio de producción y acción de las citoquinas y el embrión es capaz de comunicarse con el endometrio utilizando el mismo idioma citoquinareceptor.

El factor inhibidor de leucemia (LIF) se expresa en el endometrio durante todo el ciclo menstrual, especialmente en su fracción epitelial. Los oocitos humanos y los embriones preimplantación tienen ambos componentes del receptor de LIF, LIFrb y gp 130 mARNs, con posible respuesta del blastocisto al estímulo de LIF durante la implantación. Luego de la implantación, disminuyen en el embrión, pero aumentan en la decidua y el LIF mARN en la placenta del primer trimestre. Es decir, el LIF tiene rol regulador en el desarrollo de la interfase fetomaterna. El LIF está disminuido en el endometrio de mujeres infértiles en comparación con las mujeres fértiles, entre los días LH +7 y LH +12.

El sistema interleuquina-1 (IL1) parece ser segregado en su totalidad (IL 1a, IL-1b/IL1r^a) por el embrión humano, en respuesta a un factor endometrial aún no conocido. El blastocisto humano aumenta la subunidad b3 del epitelio endometrial debido a la unión y activación del IL1a + IL1b al IL1r tI del epitelio endometrial. Ello permite al blastocisto adherirse a las células epiteliales endometriales.

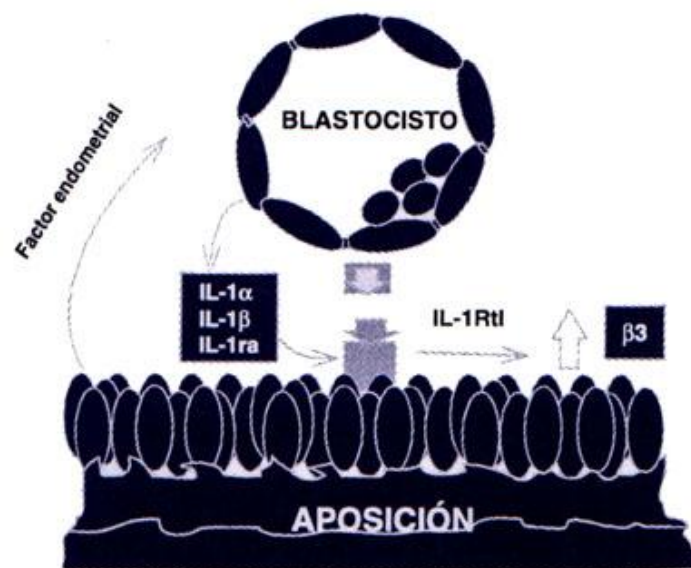


Figura1. Esquema de la interacción entre el embrión humano y la célula del epitelio endometrial. En respuesta a un factor endometrial desconocido, el embrión segrega el sistema IL-1 completo (IL-1a, IL1b/IL-1ra). El blastocisto regula y aumenta la subunidad b3 del epitelio endometrial a la IR-1R tI del epitelio endometrial ²⁸

La familia del factor de crecimiento epidermal (EGF) incluye al EGF, el factor que transforma el crecimiento a y b (TGFa y TGFb), la anfirregulina, el EGF que une a heparán (HBEGF), la betacelulina, epirregulina y los factores de diferenciación herregulinas/neu²⁸. En el endometrio humano, el estradiol aumenta el EGF RNAm y la EGF inmunorreactiva. La EGF puede modular el sistema activador de plasminógeno/plasmina en concierto con la progesterona, lo que podría estar involucrado en la invasión del embrión. Los esteroides no tienen efecto regulatorio sobre la expresión de LIF mARN. Altas dosis de progesterona y estradiol disminuyen ligeramente su producción, con diferencias entre las especies animales. La IL1b el factor de crecimiento TNFa derivado de plaqueta (FGDF), el EGF y el TGFa son potentes inductores de expresión de LIF en las células estromales del endometrio, dependiendo de la dosis y del tiempo, mientras que la IFNi inhibe la expresión de LIF inducida por estas citoquinas¹⁹.

Los factores estimulantes de colonias 1 (CSF1) o factores estimulantes de colonias de macrófagos son un grupo de glicoproteínas regulatorias que estimulan la proliferación y diferenciación de la línea fagocítica mononuclear. El CSF mARN aumenta en el endometrio secretor y alcanza su pico en el primer trimestre del embarazo¹⁶. Existe expresión de CSF1 mARN en las células deciduales cultivadas, en las células trofoblásticas del primer trimestre y en las células mesenquimales villosas del segundo y tercer trimestre¹⁵. La mayor expresión se encuentra en el sincitiotrofoblasto, más que en el citotrofoblasto. En la placenta a término la expresión de CSF1R mARN se restringe al sincitiotrofoblasto y las células de



Hofbauer²⁸. Es decir, los CSF1 estimulan el crecimiento placentario y la síntesis de lactógeno placentario y hGG2.

Los factores de crecimiento similares a insulina (IGF) I y II se expresan durante las fases proliferativa y secretoria del endometrio respectivamente. La IGFBPI proveería un mecanismo fisiológico que limita la natogénesis inducida por IGFBPII que es un factor de control de invasión trofoblástica¹².

Las endotelinas y el factor de crecimiento de fibroblasto (FGF) inducen la angiogénesis endometrial, con rol en la invasión del trofoblasto².

Invasión del citotrofoblasto

Las CTB se comportan como metastásicas (expresan integrina $\alpha 6\beta 4$) pero sólo transitoriamente en el primer trimestre, invadiendo sólo el endometrio y el tercio proximal del miometrio.

La regulación temporal y espacial de la invasión del trofoblasto es mediada por factores uterinos, que incluyen glicoproteínas de la matriz extracelular (fíbronectina, laminina) y productos secretorios de células endometriales diversas (IGFBPI y diferentes citoquinas). Al expresar las CTB integrina $\alpha 5\beta 1$, su comportamiento invasor y la secreción de gelatinasa (MMP9) casi se detienen, la adquisición de integrina $\alpha 1\beta 1$ permitirá a las CTB invadir las arterias espirales⁴.

Pinópodos

Cuando se abre la ventana de implantación, aparecen entre el lúmen uterino y el endometrio los denominados pinópodos, protrusiones apicales del epitelio endometrial con aspecto secular, estructuras celulares que permiten el intercambio de fluidos, electrolitos y proteínas de peso molecular bajo, favoreciendo la aposición²⁹. Los pinópodos se desarrollan, alcanzan su máxima expresión y desaparecen en no más de 48 h, representando el marcador morfológico más importante de la ventana de implantación, es decir, de la receptividad uterina.

Por otro lado, la membrana basal se representa como la primera barrera a la invasión del trofoblasto.

Tabla 1. Metaloproteinasas (MMPs)³

MMPs	Sinónimos	Sustratos	Locación del gen
MMP-1	Colagenasa intersticial Colagenasa de fibroblasto	Col I, II, III, VII, X, MMP-5, entactina	11q22-a23
MMP-2	Gelatinasa A Gelatinasa 72 kD	Col IV, V, VII, X, fibronectina gelatina, elastina	16q13
MMP-3	Estromelisina-1 Transina 1	Col III, IV, IX, X, gelatina fibronectina laminina, elastina, caseína	11q23
MMP-7	PUMP-I, matrisilina	Caseína, fibronectina, gelatina	11q21-q22
MMP-8	Colagenasa de neutrófilo Colagenasa PMNL	Col I, III	11q21-q22
MMP-9	Gelatinasa B Gelatinasa 92 kD	Col IV, V, gelatina	20q11,2-q13,1
MMP-10	Estromelisina 2, Transina 2	Col II, IV, V, fibronectina, gelatina	11q22,3-q23
MMP-11	Estromelisina 3	Col IV	22q11, 2
MMP-13	Colagenasa 3	Col I	11q22,3
MMP-14	MT1-MMP, MMP-X1	MMP-2	14q11-q12
MMP-15	MT2-MMP	MMP-2	
MMP-16	MT3-MMP, MMP-X2	MMP-2	



Mediadores de la penetración

La invasión de las células trofoblásticas no se debe a presión pasiva por crecimiento, sino a un proceso bioquímico activo. Una célula es invasiva en virtud de su habilidad de segregar proteasas y células trofoectodérmicas, tal como ocurre con el CTB^{3,10,14}. En la invasión actúan proteasas, catepsinas y metaloproteinasas, que permiten al CTB penetrar al estroma endometrial. La invasión trofoblástica y la permisividad endometrial son los principales determinantes del resultado de la implantación.

Metaloproteinasas

El potencial metastásico de las células tumorales depende de su capacidad de segregar enzimas proteolíticas capaces de degradar los constituyentes de la membrana basal y la matriz extracelular del tejido huésped. Diversas enzimas están comprometidas en el proceso de invasión, pero sólo las metaloproteinasas de la matriz (MPM) tienen la capacidad de digerir los diferentes colágenos que constituyen el ambiente celular inmediato.

Las metaloproteinasas de la matriz (MPM) forman una familia de 12 enzimas homólogas que estructuralmente tienen un átomo de Zn⁺⁺ en su dominio activo. Son segregadas como enzimas inactivas (zimógenos) y su activación acontece por proteólisis. La actividad local de las está bajo el control de los inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMP1 y TIMP2)³.

Se clasifica a las metaloproteinasas en:

- Gelatinasas, que son A y B (gelatinasas 72 y 92 kDa o MMP2 y MMP9), encargadas de digerir el colágeno tipo IV (membrana basal) y el colágeno desnaturalizado (gelatina).
- Colagenasas, con 3 proteasas: colagenasa intersticial (MMP1 o colagenasa1), colagenasa de neutrófilo (MMP8) y colagenasa3 (MMP13). Digeren colágeno tipos I, II, III, VII y X, esto es, el colágeno de la matriz extracelular del intersticio.
- Estromelisin, con MMP3, 7, 10 y 11 (estromelisin 1, matrilisina, estromelisin 2 y 3): digieren colágeno tipo IV, V, VII, laminina, fibronectina, proteoglicanos y gelatina.
- Metaloproteinasas de membrana (MTMMP), con MMP14, 15, 16: tienen sustrato por MMP2 y permiten la activación de MMP2 en la superficie celular del frente invasor.
- Como indicadores de la expresión de las metaloproteinasas, el trofoblasto humano muestra proteínas y mRNA MMP. El CTB del inicio del embarazo es más invasivo que a término. Los embriones humanos de 8 células ya producen MMPs.
- In vitro, el CTB invade una membrana amniótica acelular o una membrana basal reconstituida por su habilidad de segregar MMPs. La MMP9 tiene fenotipo metastásico⁹. El inhibidor tisular de metaloproteinasas (TIMP) inhibe la capacidad de metástasis.

Células trofoblásticas, NK y LAK

Las células trofoblásticas son resistentes a la lisis por los linfocitos T y las células NK, pero no a las células NK transformadas por ciertas citoquinas a células asesinas activadas por linfoquina (LAK). Las citoquinas que activan NK a LAK (embriotóxicas) son IL1, IL2, THF α y b. La IL3, GM-CSF y TGF-b2 (cuya fuente son células NK deciduales que expresan CD56+, CD16) previenen la activación a LAK. Al ser activadas por IL2, las células deciduales expresan CD56+ CD16+ y son tóxicas a las células trofoblásticas¹³.

Las células endometriales y las células linfoides [que corresponden a células asesinas naturales (NK) 70%, macrófagos 20% y células T supresoras 10%] se comunican con las células trofoblásticas por medio de citoquinas (alrededor de 54, facilitadoras e inhibitorias del crecimiento trofoblástico) y proteínas de superficie celular. Las células T tienen un sistema de reconocimiento muy específico del tejido no propio o extraño.

Las células NK tienen un sistema de reconocimiento de espectro más amplio: son citolíticas contra las células blanco diferentes de los HLA clásicos. Reconocen lo que falta o la ausencia de lo propio. El HLAG proveería el perfil HLA necesario para proteger a trofoblasto de ser lisado por las células NK.



Sistemas enzimáticos que intervienen durante la invasión

Los sistemas enzimáticos trofoblásticos responsables de la invasión son:

- Sistema activador del plasminógeno uroquinasa (uPA) / inhibidor del activador del plasminógeno I (PAII): produce uPA y posee receptores, originando efecto proteolítico.
- Sistema de metaloproteínas (estromalinas y colagenasa tipo IV) / inhibidores tisulares de las metaloproteínas (TIMP): esenciales para la degradación de la matriz extracelular.
- Proteína LDL, relacionada al receptor LRP: elimina de la circulación los complejos proteasainhibidor; esto es, internaliza y recicla los complejos inactivos uPA/PAII.

Células trofoblásticas y HLAG

Se sabe que existe inmunosupresión sistémica durante el embarazo, porque disminuye la actividad de las células NK y la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo¹⁴. Los factores inmunosupresivos potenciales incluyen progesterona, glipocroteína 2a asociada al embarazo, alfafetoproteína, factor beta que transforma el crecimiento (TGF- β) y citoquinas tipo 2 de células T de ayuda.

Las células trofoblásticas no expresan los antígenos leucocíticos humanos clásicos (HLA A, B moléculas clase Ia o HLAD, moléculas clase II), de manera que no son reconocidas como extrañas por las células maternas. Sin embargo, las células trofoblásticas que invaden el útero expresan un locus no clásico HLAG (moléculas clase Ib) y segregan una forma truncada sHLA-G 2,20,23, lo que protegería al trofoblasto contra las células NK maternas, proporcionando un perfil HLA que hace que el trofoblasto sea considerado "propio".

El gen HLAG tiene una organización intrón/exón idéntica a la de los genes clase Ia (HLAA, B y C) y el producto proteína HLAG tiene una secuencia 86% idéntica a la secuencia clase I. El HLAG tiene una masa molecular menor (37 a 39 kDa) a las moléculas Ia, debido a un codón de detección prematura en el exón 6, que resulta en la delección de todos, salvo 6, los aminoácidos en la cola citoplasmática. Se ha descrito 6 alternativas de mRNA dividido. Fuera de la forma entera GI, hay transcripciones a las que les falta el exón 3 (G2), los exones 3 y 4 (G3) o el exón 4 (G4), que codifican proteínas a las que les falta los dominios $\alpha 2$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$, ó $\alpha 3$.

La producción de HLA-G es parte integral de la diferenciación del citotrofoblasto durante su invasión. El citotrofoblasto en contacto directo con los tejidos maternos expresa HLAG. El feto también está rodeado por células (amniocitos) que expresan HLAG y líquido que contiene HLAG. Las células trofoblásticas necesitan expresar características invasivas sólo transitoriamente, pero deben evitar consistentemente la vigilancia inmune materna²³.

Desarrollo del blastocisto

Cuatro a cinco divisiones del huevo fertilizado originan una mórula, en el estadio de desarrollo de 16 a 32 células. Las células externas de la mórula desarrollan polaridad del citoplasma y de la membrana plasmática, con regiones apical y basolateral bien definidas. La polarización de las células externas corresponde al primer estadio de la diferenciación embrionaria y es esencial para la formación del blastocisto.

Las células externas polarizadas se convierten en trofoectodermo, el primer epitelio del embrión, esencial para las funciones de transporte y, más tarde, para establecer las membranas extraembrionarias. En contraste, las células internas no se polarizan y forman masa celular interna que luego dará origen a todos los tejidos intraembrionarios. Luego, se forma un espacio que se llena de líquido, la cavidad del blastocisto, líquido que se sigue acumulando, causando estiramiento y adelgazamiento de la zona pelúcida, lo cual parece facilitar la preparación (hatching) del blastocisto. Se transporta sodio del exterior al espacio intercelular interno y luego a la cavidad del blastocisto.



Moduladores de maduración de espermatozoides y embriones

Hay 4 clases de moduladores de la "capacitación" o maduración de los espermatozoides y los huevos o embriones precoces:

- aminoácidos beta
- ión bicarbonato
- progesterona
- oviductinas (sólo existen en la trompa)

Para los espermatozoides, los aminoácidos beta, el ión bicarbonato y la progesterona interactúan para promover la motilidad, capacitación y la reacción acrosómica. Las oviductinas facilitan la capacitación y el reconocimiento y adhesión específicas de especie a la zona pelúcida.

Moduladores de maduración de embriones

La progesterona promueve un ambiente tubárico permisivo; son facilitadores el ión bicarbonato para la división, y los aminoácidos beta que, al actuar como osmolitos orgánicos son estabilizadores de membrana y/o antioxidantes.

Las oviductinas se adhieren a la zona pelúcida del huevo ovulado, aumentando la adhesión espermática y la velocidad de penetración del espermatozoide. Las oviductinas, en el espacio perivitelino o al ser endocitosadas por el embrión preimplantatorio, pueden regular la diferenciación durante la transición de mórula a blastocisto.

Modificaciones del embrión

En la fase proliferativa o totipotencial, las células embrionarias pueden originar un nuevo embrión bajo condiciones adecuadas, es decir, se caracterizan por falta de transcripción genética. El embrión vive sobre la base de la información (materna) obtenida del oocito. De estadio de 4 a 8 células, se establece la transcripción y se inicia la expresión de la información genética de espermatozoide. Las células embrionarias se polariza y ocurre la diferenciación funcional, terminando en la formación del trofoectodermo, la masa celular interna la cavidad blastocística. El embrión produce esteroides enzimas, hormonas, proteínas específicas, citoquinas y otros autocoides.

Sintasa del óxido nítrico en la implantación

La actividad de la sintasa de óxido nítrico uterina (SON) aumenta antes de la implantación del embrión. El estradiol, cuya concentración hace pico antes de la implantación, podría regular la actividad de la SON en el útero durante la nidación. La producción de ON es necesaria para obtener una implantación exitosa del embrión.

Mensajes embriónendometrio

La adhesión promueve la primera orientación de embrión y generalmente tiene lugar en el polo embrionario. Cuando el blastocisto alcanza el plano epitelial desaparece la cavidad del blastocisto y se inicia la proliferación trofoblástica. Durante la aposición y adhesión los mensajes del embrión hacia la superficie epitelial son amplificados y transmitidos al estroma, con efecto sistémico²². La receptividad endometrial está influenciada por la calidad del blastocisto y no mejora con la hiperestimulación.

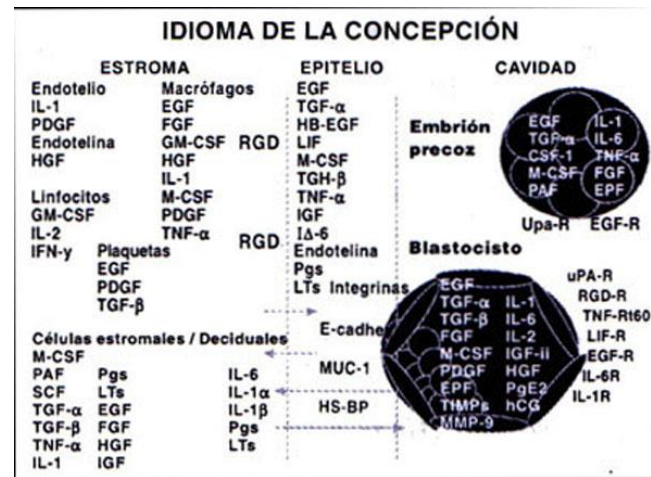


Figura 2. Idioma de la concepción

Conversación de la implantación

El blastocisto, durante su acercamiento al endometrio, inicia un diálogo con el endometrio de manera de obtener su receptividad. Intervienen en aspecto las citoquinas, factores de crecimiento, Hormonas, autocoides, protaglandinas, leucotrienos, entre otros (figura 2).

Investigación clínica del endometrio

En la evaluación clínica del endometrio se emplea los siguientes métodos²⁹:

- Biopsia endometrial durante la época de implantación (fase lútea media). Es posiblemente el más empleado en la investigación de la ovulación.
- Estradiol y progesterona: los niveles altos de E2 (interceptivos) y la alteración de la relación E2/P se asocian con alteración de la receptividad endometrial.
- Grosor endometrial y patrón ecogénico por ultrasonido. Aunque existe controversia reciente sobre cuál grosor es el más confiable para obtener gestación, se considera que es preferible que el endometrio sea > 6 mm.
- El valor del patrón trilaminar no ha sido correlacionado con la histología, por lo que no se sabe la real importancia de su hallazgo.
- Vascularidad endometrial y resistencia al flujo sanguíneo de la arteria uterina (IP) por Doppler color: existe mayor receptividad cuando el IP es 1,3 a 3,4. Un IP de arteria uterina promedio de 2,5 puede ser usado como corte para identificar la receptividad uterina óptima antes de la transferencia embrionaria⁷.
- Marcadores por microscopia electrónica: evaluación de los pinópodos.
- En forma experimental, se estudia por RNM los hallazgos en ratas del volumen de líquido extracelular, la permeabilidad vascular o el flujo uterino,
- Marcadores bioquímicos uterinos: PP14, globulina α_2 asociada a embarazo, PEP, IL1a, IL1b, IL1ra.
- Marcadores inmunohistoquímicos: coexpresión de las integrinas b3, a4 y a1 en el epitelio endometrial durante la ventana de implantación.

Marcadores inmunohistoquímicos en la falla de implantación

Son marcadores inmunohistoquímicos para determinar la falla en la implantación los siguientes:

- Moléculas endometriales de adhesión y antiadhesión en la ventana de implantación: la integrinas b3 (día 20 y en la fase lútea media), a4 (día 14 a 24) y a1 (día 15 a 28). El blastocisto aumenta la integrina b3 en las células epiteliales endometriales, mediado en parte por el sistema IL1 del embrión.



- Anticuerpos antifosfolipídicos: los fosfolípidos son moléculas adhesivas en la formación del sincitiotrofoblasto; principalmente la fosfoserina la fosfoctanolamina crean un estado inmunogénico; los anticuerpos antifosfolipídicos interfieren con la conversión de citotrofoblasto a sincitiotrofoblasto.
- Cuantificación de linfocitos circulantes que expresan CD56+: un valor > 12% predice la pérdida de un producto cariotípicamente normal, con especificidad de 87% y valor predictivo de 78%. Un menor número de CD56+ CD16 y un aumento de CD56+ CD16+ en biopsias de lecho placentario se asocian con aborto incipiente.
- Detección de embriotoxinas: células LAK.

Fallas en la implantación

Se ha tratado de explicar algunas de las complicaciones del embarazo con alteraciones que hubiera podido haber ocurrido durante la implantación. Así tenemos:

- Fallas durante la aposición: el embarazo ectópico la localización anormal de la placenta.
- Fallas en la adhesión: la falla en la adhesión podría originar infertilidad de causa desconocida, falla de implantación después de transferencias embrionaria repetidas (FIV donación de oocitos) y aborto tempranos que ocurren antes de la menstruación.
- Fallas en la invasión: aquí se podría considerar la invasión patológica para más o para menos. Así, serían ejemplos de falla en exceso la placenta acreta la enfermedad del trofoblasto. La invasión sería defectuosa en la preeclampsia. Recordemos que, dependiendo de su integridad (receptores proteicos de la matriz extracelular), el CTB se diferencia en un fenotipo invasivo o se une para formar sincitio secretor. Así, el embarazo normal debe ser visto como un estado de equilibrio entre mecanismos reguladores invasivos y antiinvasivos. La invasión trofoblástica invasiva conduce a patologías, tales como la mola hidatidiforme y el coriacarcinoma, mientras que un invasión discreta induce a la preeclampsia.

Referencias bibliográficas

1. Aplin JD. Adhesión molecules in implantation. *Rev Reprod* 1997; 2(2): 8493.
2. Arici A. Molecular intermediaries of the implantation process. En García JE, et al: Human conception from oocyte to blastocyst and implantation. Postgraduate Course, San Francisco, CA, Oct. 1998
3. Bischof P, Martelli M, Campana A, Itoh Y, Ogata Y, Nagase H. Importance of metalloproteinases (MMP) in human trophoblast invasion. *Early Pregn Biol Med* 1995; 1: 2639.
4. Bischof P, Haenggeli L, Campana A. Gelatinase and oncofetal fibronectin secretion are dependent upon integrin expression on human cytotrophoblasts. *Hum Reprod* 1995; 10: 73442.
5. Bischof P, Meisser A, Campana A. Metalloproteinases, cell adhesion and invasion molecules in human implantation and placentation. En Kempers RD, Cohen J, Haney AF, Younger JB, Eds: Fertility and Reproductive Medicine, Proceedings of XVI World Congress on Fertility and Sterility, San Francisco, Oct 1998. Elsevier Science BV, Amsterdam.
6. Boatman DE. Responses of gametes to the oviductal environment. *Hum Reprod* 1997; 12(11 Suppl): 13349.
7. Chien LW, Tzeng CR, Chang SR, Chen AC. The correlation of the embryo implantation rate with uterine arterial impedance in in vitro fertilization and embryo transfer. *Early Pregnancy* 1995; 1(1): 2732.
8. Damsky CH, Fitzgerald M, Fischer S.J. Distribution patterns of extracellular matrix components and adhesion receptors are intricately modulated during first trimester cytotrophoblast differentiation along the invasive pathway in vivo. *J Clin Invest* 1992; 89: 21022.
9. De Clerck YA, Perez N, Shimada H, Boone TC, Langley KF, Taylor SM. Inhibition of invasion and metastasis in cells transfected with an inhibitor of metalloproteinases. *Cancer Res* 1992; 52: 7018.
10. Fisher S.J, Cui T, Zhang L, Hartmann K, Grahl K, GuoYang Z, Tarpey J, Damsky CH. Adhesive and degradative properties of human placental cytotrophoblast cells in vitro. *J Cell Biol* 1989; 109: 891902.
11. Garcia JE. The implantation window. En Garcia JE et al. Human conception from oocyte to blastocyst and implantation. Postgraduate Course, San Francisco, CA, Oct. 1998.
12. Giudice LC. Growth factors and growth modulators in human uterine endometrium: their potential relevance to reproductive medicine. *Fertil Steril* 1994; 61: 117.



13. Hill JA, Medin CGC, Johnson PM. Immunohistochemical studies of human uteroplacental tissues from first trimester spontaneous abortions. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 904.
14. Hill JA, The immunology of implantation. En Garcia JE et al. Human conception from oocyte to blastocyst and implantation. Postgraduate Course, San Francisco, CA, Oct. 1998.
15. Kansaki H, Yui J, Iwai M, et al. The expression and localization of mRNA for colonystimulating factor (CSF1) in human term placenta. *Hum Reprod* 1992; 7: 5637.
16. Kauma SW, Aukerman SL, Eirman D, et al. Colonystimulating factor1 and cfms expression in human endometrial tissues and placenta during the menstrual cycle and early pregnancy. *J Clin Endocrin Met* 1991; 73: 74651.
17. Keltz MD, Attar E, Buradagunta S, Olive DL, Kliman HJ, Arici A. Modulation of leukemia inhibitory factor gene expression and protein biosynthesis in the human filloplan tube. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 16119.
18. Klentzeris LD. The role of endometrium in implantation. *Hum Reprod* 1997; 12(11 Suppl): 1705.
19. Kojima K, Kansaki H, Iwai M, et al. Expression of leukemia inhibitory factor in human endometrium and placenta. *Biol Reprod* 1994; 50: 8827.
20. Kovats S, Main EK, Librach C, Sutubblebine M, Fischer SJ, DeMars R. A class I antigen, HLAG, expressed in human trophoblasts. *Science* 1990; 248: 2203.
21. Lessey BA, Castelbaum AJ, Buck CA, et al. Further characterization of endometrial integrins during the nienstrual cycle and in pregnancy. *Fertil Steril* 1994; 62: 497506.
22. Lopata A. Blastocyst development and implantation. En Garcia JE et al. Human conception from oocyte to blastocyst and implantation. Postgraduate Course, San Francisco, CA, Oct. 1998.
23. McMaster MT, Fisher SJ. The fetal transplant: is HLAG inoportant? En Kempers RD, Cohen J, Haney AF, Younger JB. Eds: Fertility and Reproductive Medicine, Proceedings of the XVI World Congress of Fertility and Sterility, San Francisco, Oct. 1998, Elsevier Science BV, Amsterdam.
24. Miyauchi A, Momoeda M, Nakabayashi M, Osuga Y, Yano T, Tsutsumi O, Taketani Y. Regulation of the plasminogen activator/plasmin system by epidermal growth factor in cultured human endometrial cells. *Hum Reprod* 1995; 10: 32848.
25. Novaro V, Gonzales E, Jawerbaum A, Rettori V, Canteros G, Gimeno MF. Nitric oxide synthase regulation during embrionary implantation. *Reprod Fertil Dev* 1997; 9(5): 55764.
26. Seppála M, Koistinen H, Koistinen R, Timonen T. Implantation and placentation: glycodepins. En Kempers RD, Cohen J, Haney AF, Younger JB, Eds: Fertility and Reproductive Medicine, Proceedings of the XVI World Congress on Fertility and Sterility, San Francisco, Oct 1998, Elsevier Science BV, Amsterdam.
27. Simon C, Pellicer A, Polan ML. Interleukin1 system crosstalk between embryo and endometrium in implantation. *Human Reprod* 1995; 19, suppl 2: 4354.
28. Simon C. Immunologic cytokines/growth factors in implantation. En Garcia JE et al: Human conception from oocyte to blastocyst and implantation. Postgraduate Course, San Francisco, CA, Oct 1998.
29. Simon C, Ardiles G. Endornetrial thickness and estradiol levels: correlation at implantation. En García JE et al: Hurnan conception from oocyte to blastocyst and implantation. Postgraduate Course, San Francisco, CA, Oct 1998.
30. Starkey PM, Sargent IL, Redman CW. Cell populations in human early pregnancy decidua and isolation of large granular lymphocytes by flow cytometry. *Immunology* 1988; 65: 12934.