

Los nuevos moduladores endometriales en el embarazo temprano

Margarita Díaz-Flores,* Luis Arturo Baiza-Gutman**, Juan José Hicks*

Resumen

Se pensó por mucho tiempo que las citocinas sintetizadas por el útero y la placenta eran producidas exclusivamente por y para actuar sobre las células linfohematopoyéticas. Si bien muchas de estas citocinas modulan la fase efectora del sistema inmune, en el tracto reproductor femenino, sus principales células blanco y sitios de síntesis no son las células linfohematopoyéticas. Durante el embarazo, las células epiteliales uterinas, las células deciduales y el trofoblasto parecen ser la fuente principal de las citocinas. Esto sugiere dos alternativas no necesariamente exclusivas: o que estas células son extensiones que regulan al sistema inmune o que estos factores modulan el crecimiento y diferenciación de los tejidos uterinos y embrionarios. En el presente trabajo se analizan los sitios de síntesis, las células blanco y las posibles funciones de las citocinas durante la gestación temprana.

Palabras clave: Citocinas, epitelio, decidua, preimplantación, blastocisto.

Summary

Cytokines synthesized by the uterus or placenta include those thought to be produced exclusively by, or thought to act on, cells of the lymphohematopoietic system. Although many of these cytokines are protein mediators of the immune system effector phase, in the female reproductive tract their principal target cells and sites of synthesis are non-lymphohematopoietic cells. During pregnancy, uterine epithelial cells, decidual cells and trophoblast appear to be major sources of the classic lymphohematopoietic cytokines. This suggests two not necessarily exclusive alternatives: that these cells are extensions of, or are involved in, regulating the immune system, or that these factors regulate growth and differentiation of uterine and embryonic tissues. This paper analyzes the sites of synthesis, targets and possible functions of the cytokines during early pregnancy.

Key words: Cytokines, epithelium, decidua, preimplantation, blastocyst.

* Unidad de Investigación Médica en Bioquímica, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social.

** ENEP IZTACALA-UNAM

Correspondencia y solicitudes de sobrescritos: Unidad de Investigación Médica en Bioquímica, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Apartado Postal 12-855, México, D.F.

Introducción

Los procesos biológicos que conducen a la implantación embrionaria en el útero materno están regulados por un sistema de interacciones moleculares que se realizan desde las primeras etapas del embarazo. En estos sucesos, la preparación morfológica y funcional del endometrio, así como la composición bioquímica de las secreciones embrionaria y uterina tienen un papel preponderante, ya que permiten la existencia de un medio adecuado para la nutrición y desarrollo del embrión.

El proceso de implantación en los mamíferos, entre los que se encuentra el humano, tiene en algunos aspectos mucha similitud con la respuesta inflamatoria,^{1,2} ya que el endometrio considera al blastocisto como un cuerpo extraño debido a que éste expresa antígenos paternos ajenos al organismo materno.³ Entre las características que tienen en común la respuesta uterina al blastocisto y la inflamatoria, destacan la producción de prostaglandinas y leucotrienos, la neovascularización y la infiltración de macrófagos y leucocitos (linfocitos, neutrófilos y eosinófilos); en la respuesta uterina, cada uno de estos sucesos ocurre como parte de la fisiología normal del endometrio.

La infiltración leucocitaria es el primer mecanismo de la respuesta inflamatoria clásica. En dicha respuesta ocurren interacciones complejas entre varios tipos de células que involucran no sólo el tránsito leucocitario sino también su activación y la producción concomitante de varios mediadores solubles, como son las citocinas.⁴ Estas moléculas se producen en forma transitoria para actuar localmente en órganos y tejidos determinados, debido a que participan en la comunicación intercelular durante el proceso inflamatorio. Los informes actuales indican que tanto las células que residen en los tejidos del aparato reproductor femenino como las transitorias, son fuente de diversas citocinas, las cuales tienen la capacidad de influir en el funcionamiento leucocitario, en las células endoteliales y en otros tejidos maternos. A su vez, las células inmunes también producen citocinas que afectan la fisiología materna. En el útero, varios factores son sintetizados durante la gestación por el epitelio y las glándulas uterinas, la decidua y las células de la placenta; se ha demostrado por estudios *in vitro* e *in vivo* que éstos regulan la actividad del linfocito y

de otros leucocitos; así mismo, se sabe que dichos factores modulan las interacciones inmunológicas feto-maternas.⁵

Pese al gran número de estudios que se han realizado con el propósito de esclarecerlos mecanismos que utiliza el concepto para lograr sobrevivir en un ambiente intrauterino potencialmente hostil, hasta la fecha esta incógnita permanece sin respuesta. Después del apareamiento, se presenta en el útero una respuesta inflamatoria desencadenada por factores presentes en el líquido seminal, lo que posiblemente constituye un mecanismo de importancia crítica en la etapa temprana de la preñez. De ser así, las citocinas deberán tener una participación importante en el establecimiento de un ambiente propicio que permita la implantación del huevo y los desarrollos embrionario y placentario.

El interés del presente artículo es presentar los hallazgos publicados en la literatura reciente sobre las posibles funciones de las citocinas que han sido identificadas durante el periodo de preimplantación del blastocisto de mamífero, así como los sitios de síntesis de estos compuestos y sus respectivas células blanco, con el fin de integrar estos conocimientos a la comprensión de las bases moleculares del proceso de implantación. En este trabajo se consideran los siguientes moduladores: los factores estimulantes de colonias (CFS-1 y GM-CSF), las interleucinas (IL-1 y 6), el factor de crecimiento transformante β (TGF β 3), el factor de necrosis tumoral α (TNF α) y el factor inhibitorio de leucemia (LIF).

Aspectos generales de las citocinas

En las dos últimas décadas se ha detectado un grupo importante de mediadores peptídicos que modulan una gran variedad de funciones celulares. Esta familia de mediadores, conocidas como citocinas, está integrada aproximadamente por 30 miembros que participan en el control de las respuestas inmunológica, inflamatoria y hematopoyética; dentro del grupo están incluidas las linfocinas, las monocinas, los interferones y las interleucinas. Las citocinas por lo general son péptidos o glicoproteínas con pesos moleculares de 6000 a 60000 kDa, actúan en concentraciones de 10^{-10} a 10^{-15} M y son sintetizadas por células

inmunocompetentes activadas, así como por células derivadas del mesénquima; muchos de estos compuestos son secretados durante el curso de las respuestas inmune e inflamatoria. Otras células como los fibroblastos, las células endoteliales y los polimorfonucleares, también son capaces de producir estas moléculas solubles.

La función de las citocinas es similar a la de una hormona clásica. No obstante, lo que las hace diferentes, es la diversidad de células capaces de sintetizarlas, aunque ya existen muchas evidencias de que la síntesis de hormonas protéicas ocurre en células distintas a la glándula endocrina originalmente asignada como única fuente de su producción. Por otra parte, las citocinas son producidas por diferentes células y no por glándulas especializadas y habitualmente actúan en forma paracrina o autocrina. En el cuadro I se resumen las principales funciones de las citocinas durante las etapas iniciales de la gestación.

Producción de citocinas endometriales durante el embarazo temprano

En la búsqueda de los sitios productores de citocinas en el endometrio, se han empleado diferentes modelos biológicos en mamíferos. Los resultados señalan al epitelio^{6,7} como la fuente primaria productora de citocinas. El perfil de este tipo de moléculas sintetizadas en este tejido incluyen: el CSF-1, el GM-CSF, el TNF α , el TGF β , la IL-1, la IL-6 y el LIF.

Los estudios *in vitro* realizados con células uterinas de ratona preñada indican que el GM-CSF y la IL-6 se producen principalmente en el epitelio luminal y glandular.⁸ El estroma endometrial, el miometrio, la decidua y el trofoblasto tienen la capacidad de producir diversas citocinas. Así mismo, la población de macrófagos y leucocitos que transitoriamente se encuentran en el útero, también sintetizan estas moléculas (Cuadro II). Los diferentes tipos de citocinas que expresa el epitelio, indican que en este tejido operan mecanismos específicos en el control de su síntesis. Actualmente se conoce que las hormonas esteroideas⁹ son determinantes de la síntesis del CSF-1 y del GM-CSF, la cual depende del control transcripcional de estas moléculas.

También en dichas síntesis participan otros reguladores como el interferón γ (IFN γ), que inhibe la síntesis del GM-CSF en el epitelio, lo que indica que otras moléculas de origen linfocítico pueden influir en el perfil de las citocinas derivadas del epitelio.

No es raro que el sitio principal de síntesis de las citocinas sea el epitelio uterino, ya que éste desempeña varias funciones que son necesarias para la implantación del blastocisto. Dentro de ellas, destacan su participación en el control del medio intrauterino para mantener el metabolismo y nutrición del blastocisto, el proporcionar una superficie celular adecuada que permita la interacción con el trofoblasto, y por último se puede citar su participación en la transducción de la información del blastocisto hacia el estroma para dar inicio a la decidualización.¹⁰ Las funciones del epitelio son coordinadas y controladas por las secreciones de estrógenos y progestinas.

Cuadro I. Funciones de las citocinas durante la preñez temprana

GM-CSF Induce la migración de leucocitos al endometrio después del coito. Promueve el desarrollo de la placenta. CSF: Regula el desarrollo de fagocitos mononucleares y del pre-embrión. Participa en la decidualización. TGFβ: Controla la invasión del útero por el trofoblasto. Neovascularización durante la decidualización. Previene al embrión del daño por la respuesta inmune materna. TNFα: Evita la proliferación de las células del trofoblasto. Previene la invasión del trofoblasto al útero. IL-1: Induce la adhesión del blastocisto y el epitelio. Induce síntesis de prostaglandinas en el epitelio. Induce síntesis de IL-6 en las células deciduales. IL-6: Induce angiogénesis de la decidua. Induce migración de macrófagos al endometrio después del coito. LIF: Previene la diferenciación del macizo celular interno.

A continuación se describen los más sobresalientes de las citocinas durante el periodo de preimplantación, así como su posible función. La mayoría de la información proviene de la ratona y la rata debido a la disponibilidad de estos organismos para la manipulación experimental.

Cuadro II. Principales citocinas endometriales		
CSF-1	Epitelio luminal Troblasto	Macrófagos Estroma Decidua
GM-CSF	Epitelio Decidua	Placenta Macrófagos Granulocitos
LIF TGFβ	Epitelio Epitelio Decidua Miométrio	Trofoblasto Troblasto Endotelio
TNFα	Epitelio Decidua	Troblasto Macrófago
IL-1	Endotelio Embrión pre-implantado	Decidua
IL-6	Epitelio Endotelio Decidua Granulocito	Endotelio

Factor estimulante de colonias (CSF-1)

Las citocinas CSF-1, GM-CSF y G-CSF pertenecen a la familia de las CSF y son requeridas en la proliferación y diferenciación de las células hematopoyéticas que participan en la gestación. El CSF-1 se ha propuesto como un inductor de la acumulación de macrófagos en el útero, es posible que este factor además active a los macrófagos, para que produzcan la IL-1 y el interferón α, el cual puede actuar directamente sobre las células de la unidad útero-placentaria y participar en circuitos reguladores.

En la ratona preñada, la síntesis del CSF-1 por el epitelio, es más de 1000 veces mayor a la encontrada en hembras no preñadas¹¹ y en la glán-

dula metrial.¹² Los niveles significativos de este factor se detectan el día 3 de preñez,¹³ previo a la implantación, lo que coincide con la acción de la progesterona sobre el útero; a partir de esta fecha la concentración del CSF-1 se eleva gradualmente para alcanzar un pico entre los días 14 y 15.

En las capas placentarias se ha demostrado que existe una producción gradual del RNAm principalmente en las células gigantes del trofoblasto. En el trofoblasto invasivo, también se ha podido localizar una expresión significativa del péptido. En la ratona, el receptor para CSF-1 se expresa en la decidua cercana al blastocisto y declina en el exterior de la misma hacia las áreas de interimplantación. En el momento de la implantación, el RNAm del receptor para CSF-1 se localiza en el estroma, del lado antimesometrial en contacto con el embrión implantado y conforme progresa la decidualización, llega a restringirse a la decidua primaria y eventualmente a la decidua basal. En el ser humano se observa un patrón similar en la expresión del receptor.

Estas observaciones indican que el estroma y la decidua constituyen el tejido blanco principal para el CSF-1 y que este péptido podría estar implicado en el proceso de decidualización. También se ha sugerido que esta molécula regula el desarrollo de los fagocitos mononucleares y del embrión preimplantado, ya que la ausencia del CSF-1 evita la migración de macrófagos en el útero y reduce la fertilidad.

Factor estimulante de colonias macrófago/granulocito (GM-CSF)

Este factor regula la proliferación, diferenciación y la actividad funcional de los neutrófilos, macrófagos y eosinófilos, es sintetizado por las células del epitelio uterino en las fases tempranas y a la mitad de la gestación, su producción es estimulada por la exposición al fluido de la vesícula seminal o a la de lipopolisacáridos bacterianos, pero inhibida por el IFN y el cual es producido por el linfocito T activado y las células asesinas naturales.¹⁴

Los niveles más elevados del GM-CSF en el fluido luminal se observan a los pocos minutos después del apareamiento; es posible que ello sea

el resultado de la inducción de su síntesis en las células uterinas por los factores seminales y marque el inicio de la respuesta inflamatoria uterina postcoito. De la misma forma las células deciduales pueden también contribuir en la síntesis del GM-CSF.

Factor de crecimiento transformante β (TGF β)

Los factores de crecimiento transformante tipo β , integran una familia de proteínas con estructuras homólogas. Cinco son las isoformas del TGF β (TGF β s 1-5) que se han identificado, de las cuales tres predominan en los mamíferos (TGF β 1-3); a las cuales se les atribuye gran importancia por su participación en el crecimiento, diferenciación y migración celular, así como en la formación de la matriz extracelular y de moléculas de superficie celular.¹⁵

Las tres isoformas de la familia TGF β con funciones biológicas, han sido localizadas en diferentes compartimentos uterinos de la ratona, durante las etapas de pre y post-implantación. La expresión de la isoforma TGF β -I ocurre en el epitelio y la decidua durante el periodo de peri-implantación.¹⁶ Por otro lado, también se detecta este péptido en la matriz extracelular del estroma. Sin embargo, su localización en esta área se considera el reflejo de su síntesis por el epitelio; es posible que ambos, la matriz y el TGF β -1 ejerzan una acción combinada y sinérgica. La isoforma TGF β -2 se sintetiza en los epitelios luminal y glandular durante los días 1 al 4 de preñez en la rata.¹⁷ En la fase de implantación (día 5) y de post-implantación (del día 6 al 8) este péptido es producido en el miometrio y la decidua. En contraste, el sitio único de síntesis del TGF β -3 es el miometrio.

Durante el ciclo reproductor y en la gestación el útero tiene una acentuada remodelación (formación o reparación del tejido) asociada con cambios en los componentes de la membrana basal. Porejemplo, en el humano la colágena, la laminina, la fibronectina y las proteoglicanas presentan cambios tanto en el ciclo menstrual como en el embarazo. Actualmente, se sabe por estudios realizados con diferentes tejidos, que el TGF β 3 causa la acumulación de estas proteínas en la matriz extracelular. Este hecho puede deberse no sólo a que se incremente su síntesis, si no también por

que disminuya su degradación al bajar la secreción de proteasas y elevar la síntesis de inhibidores de ellas.¹⁸ Además, se ha observado que el TGF β controla la expresión de las integrinas,¹⁹ moléculas de superficie celular; que reconocen la secuencia Arg-Gly-Asp presente en la fibronectina y laminina, así como que intervienen en la adhesión célula-matriz extracelular. Ya que la invasión del endometrio por el trofoblasto es dependiente de las interacciones célula-matriz extracelular y de la migración celular, los cuales son mediados por el TGF β de una manera autocrina o paracrina, por lo tanto, es posible que este factor sea indispensable en la implantación.

En el humano el TGF β induce la diferenciación del citotrofoblasto en sinciotrofoblasto no invasivo y de esta forma puede limitar la invasividad del trofoblasto.²⁰ Con la evidencia de que el TGF β induce la síntesis de los RNAm de inhibidores de proteasas y del activador de plasminógeno en ciertas células de tipo invasivo.²¹ Esto permite proponer que el TGF β pudiera actuar de igual manera para controlar la invasión del trofoblasto; al regular la síntesis de proteasas y sus inhibidores en el embrión como en la decidua materna. Por otro lado, si la forma latente del TGF β se activa por plasmina;²² es posible que la decidua materna secrete la forma latente del TGF- β en la matriz extracelular, misma que en presencia de plasmina asociada con el activador del plasminógeno (urocinasa), transforme la forma latente del factor a su forma activa y de esta manera, el TGF β incremente la producción de inhibidores del plasminógeno (PAI-1), y por consiguiente, limite la invasión del trofoblasto.²³ (Figura 1).

Factor de necrosis tumoral α (TNF α)

La familia del TNF está integrada por dos proteínas: el TNF α que es producido por los monocitos o macrófagos y el TNF β por las células linfoides. Ambas proteínas se unen a los mismos receptores presentes en la superficie celular y tienen actividades similares. El TNF α contiene una pre-secuencia larga de 76 aminoácidos, con la que se ancla a la membrana plasmática; se piensa que en esta forma puede unirse a un receptor de otra célula adyacente y actuar sobre ella.

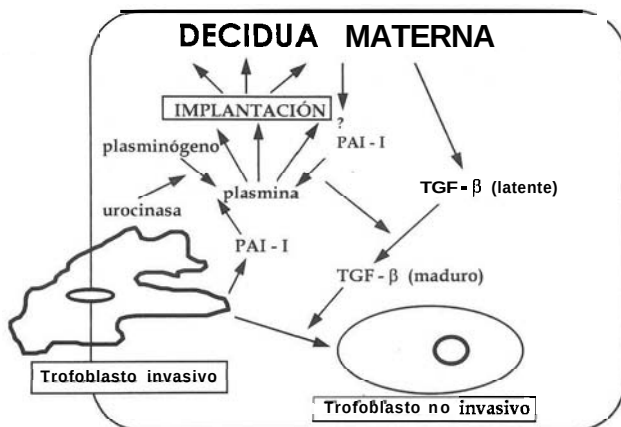


Figura 1. Representación esquemática de como el TGF β puede limitar la invasión del trofoblasto
Adaptado de Lala y Graham.²³

Los macrófagos presentes en la decidua expresan el RNAm y la proteína para TNF α , mientras que este factor no ha sido localizado en el citotrofoblasto. No obstante, los receptores de la citocina han sido detectados en la placenta.

La síntesis del TNF α en el endometrio está confinada al epitelio luminal, las células deciduales (cerca del blastocisto implantado) y en el trofoblasto placentar.²⁴ En el concepto de ratón, el RNAm de este factor está restringido a las células del trofoblasto que se encuentran en estrecha relación a la madre (células gigantes poliploides). Con base en estas observaciones, se ha propuesto que el TNF α ejerce una función protectora hacia la madre y previene de alguna manera la invasión excesiva de las células del trofoblasto hacia el interior del útero.

Interleucinas (IL)

Las citocinas IL-1, IL-6 en unión con el TNF α , constituyen un grupo de péptidos que presentan características proinflamatorias y estimulan la proliferación, diferenciación y muerte celular programada. Estos moduladores tienen además un papel secundario, que es el inducir factores que partici-

pan en la respuesta inflamatoria. El sistema IL-1 está constituido por la IL- α , la IL- β , un antagonista del receptor (IL-1ra) y por el receptor (IL-1R). Se han identificado dos clases de receptores:²⁵ el tipo I (IL-1RI) y el receptor tipo II (IL-1RII). El primero se encuentra en la mayoría de las células y parece ser el traductor de la acción de la IL-1 y el segundo se localiza en el linfocito B, en los neutrófilos y en los monocitos. No obstante, hasta la fecha su función no ha sido esclarecida totalmente. El IL-1RII reconoce ambos ligandos, el α y el β . En estudios *in vitro* e *in vivo*, se ha observado que el IL-1ra se une al receptor e impide, muchas de las respuestas fisiológicas atribuidas a la interacción de la IL-1 con el receptor, como son la producción de prostaglandinas E₂ y la de colagenasa. Así mismo, se ha visto que el RNAm del IL-1RI se expresa en el epitelio del endometrio humano a través del ciclo menstrual, alcanzando los niveles más altos en la fase lútea.

Actualmente se ha informado que el RNAm para la IL-1 β está presente en el endometrio humano²⁶ y la interleucina en el macrófago endometrial y las células endoteliales. En el caso de la ratona, los RNAm de IL-1 α y β , así como las proteínas bioactivas uterinas en la etapa de pre-implantación²⁷ se elevan al día 3 de preñez con un pico entre

los días 4 y 5, es en este último día cuando se inicia la implantación del blastocisto. Por otra parte, se ha demostrado que las dos citocinas son secretadas por el embrión humano preimplantado. El hecho de haberse localizado al receptor de la interleucina en el tejido endometrial y a la interleucina en el embrión, sugiere la existencia de una interacción citocina-receptor que lleva a cabo en el momento de la adhesión, este hecho pone de manifiesto la importancia del sistema interleucina en esta etapa crítica de la gestación. Con base en estas observaciones se ha sugerido que el sistema de IL-1 puede tener una participación importante en el proceso de la implantación embrionaria.

Mediante técnicas inmunohistoquímicas se ha podido localizar en la ratona y en el humano al IL-1R α en el día 4 de preñez, encontrando al receptor en el epitelio que rodea al blastocisto, en la decidua materna y en la placenta. La similitud de los sitios en que está presente el IL-1R α , en estas especies han conducido a plantear la hipótesis de que la interferencia de la interacción del ligando receptor para la IL-1 puede prevenir la implantación embrionaria. Para demostrar esta hipótesis, se ha usado el recombinante IL-1ra, el cual bloquea al receptor IL-1 presente en el endometrio materno y con ello se ha logrado impedir la implantación *in vivo*, sin afectarla la integridad del blastocisto.²⁵ Este hallazgo tiene un gran significado fisiológico ya que puede ser utilizado como un anticonceptivo eficiente al impedir el establecimiento embrionario.

A pesar de que el mecanismo por el cual el IL-1ra interfiere con la adhesión del blastocisto permanece por ser estudiada, la potencia de la IL-1 para inducir la adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales ya se ha demostrado. También se sabe en la actualidad que la inhibición de este efecto se logra con el empleo del recombinante IL-1ra. Apoyado en esto se propone un mecanismo de adhesión semejante entre blastocisto y el endometrio promovido por la activación del receptor tipo 1.

La IL-1 en las células deciduales, induce la síntesis de la IL-6, la cual es una fosfoglicoproteína con un peso de 30 kDa que tiene diversas formas isoméricas. En el endometrio, es sintetizada por el epitelio, el endotelio y las células mieloides. Su síntesis es regulada por factores como son los TGF α y β , la heparina, algunas prostaglandinas,

así como por la acción combinada de estrógenos y progestinas.²⁹ Sus blancos de acción son muy variados, dentro de los que se incluyen a las células T y B.

Durante ciertos procesos como es la formación de nuevos vasos sanguíneos o angiogénesis, se detecta al RNA de la interleucina. Este fenómeno de angiogénesis se caracteriza por la degradación de las membranas basales, quimiotaxis, conglomeración, migración y proliferación de células endoteliales. En el animal adulto sano, se ha comprobado que el recambio vascular es mínimo y por lo tanto no ocurre la angiogénesis. Una excepción es el sistema reproductor femenino, donde el crecimiento folicular, la formación del cuerpo lúteo, los cambios cíclicos en el endometrio uterino y la respuesta uterina a la implantación, son acompañados por neovascularización. De la misma forma, la angiogénesis es importante en la respuesta materna en el momento de la implantación y en el desarrollo embrionario.

En la preñez de la ratona la actividad máxima de IL-6 se localiza en los días 5 y 6, lo que está en correlación con la neovascularización de las prolongaciones de los vasos sanguíneos en la decidua materna después de la implantación. Por consiguiente, es posible que la IL-6 participe como inductor de la angiogénesis uterina.³⁰

Factor inhibitorio de leucemia (LIF)

El factor inhibitorio de leucemia o factor inhibitorio de la diferenciación, es una glicoproteína que tiene múltiples funciones *in vitro*. Por lo que respecta a sus funciones *in vivo* poco se conoce. Sin embargo, en el ratón los niveles más elevados del LIF en la circulación se presentan cuando hay un exceso en la formación o regresión del hueso. La expresión de esta glicoproteína ocurre en una variedad de tejidos en estado adulto y en diferentes etapas del desarrollo a niveles muy bajos. Los niveles superiores se detectan en el intestino delgado del adulto y en la piel del ratón neonato; no obstante, el significado de esto se desconoce.

En el útero de la ratona, se detectan dos picos de expresión para el LIF: el primero en el estro, previo a la ovulación y el segundo al día 4 de preñez³¹ y su localización se limita a las glándulas

endometriales. Se ha postulado que la expresión de esta citocina no depende de la presencia de embriones viables, ya que también ocurre en el día 4 en hembras pseudoembarazadas, lo que indica que su expresión está bajo control materno, posiblemente como una respuesta directa al aumento de estrógenos circulantes en los días 3 y 4 de preñez. Esto es sustentado al analizarla expresión del LIF en el modelo de implantación diferida, la cual puede ser inducida experimentalmente si las ratas preñadas son ovariectomizadas y se les administra progesterona. De esta forma, los blastocistos se mantienen en estado de diapausa libres en la luz uterina por tiempo indefinido. En este estado, la implantación puede desencadenarse por la administración de estrógenos; solamente después de ello el LIF se expresa. Por otra parte, en la actualidad existen indicios de que el LIF puede actuar también sobre el embrión puesto que el trofocotodermo cuenta con los receptores para esta molécula.

Citocinas y células mieloides en el útero

Las citocinas sintetizadas por el endometrio, también tienen como blanco a las células mieloides maduras. Por consiguiente, se piensa que el reclutamiento de estas células, así como su proliferación y desarrollo funcional en el útero, probablemente sea el reflejo del gradiente de citocinas derivadas del mismo.

La capacidad del trofoblasto, los macrófagos y los granulocitos para sintetizar y disponer de sustancias bioactivas, incluyendo a las citocinas, prostaglandinas y aminas vasoactivas del tejido uterino, aumentan la capacidad funcional de los inmunocitos y propician que se eleve la expresión de las citocinas en el periodo de preimplantación. Esta observación es apoyada en estudios inmunohistoquímicos y de hibridación *in situ* que indican que los macrófagos producen IL-1 (α y β), TNF α y el RNAm de este último. El núcleo de las células productoras de estas sustancias es grande, redondo o ligeramente irregular y contiene un nucleolo prominente, características que concuerdan con la morfología del macrófago.³²

En la ratona, después del apareo el GM-CSF epitelial, se eleva a concentraciones de 20 a 200

veces mayores; la IL-6 bioactiva presenta un comportamiento similar en el fluido luminal. Es sabido que el aumento de estas citocinas activa a los macrófagos endometriales, quienes expresan los RNAm para IL-1 α , IL-1 β y TNF- α en el día 1 de preñez, dando como resultado un aumento en los niveles de citocinas totales, para iniciar en ese momento la cascada inflamatoria **poscoito**.

Por otro lado, tanto en el limen uterino de ratas preñadas como en pseudopreñadas existe un aumento en el número de células presentadoras del antígeno macrófago-monocito, que se observa 12 horas después del apareo. En los días siguientes un mecanismo dependiente de progesterona induce la disminución progresiva de la población de leucocitos persistiendo los macrófagos en el fondo de la capa endometrial si el concepto está presente. En el caso de la ratona los macrófagos uterinos son fagocíticos, y se cree que éstos contribuyen a favorecer un ambiente inmunosupresor³³ al sintetizar PGE2. Otra de las funciones potenciales de estas células es la síntesis de algunas citocinas (como el TNF α) que están asociadas con la respuesta inflamatoria y con el crecimiento y la diferenciación celular. Estas observaciones sugieren que los macrófagos participan en forma importante en la dinámica de la preñez. Un patrón similar ocurre con la población de linfocitos, los cuales se acumulan en el endometrio en el día 1 y 2 después de la monta; en estos días se encuentran tanto macrófagos y linfocitos en varios sitios adyacentes al epitelio. Otro tipo de células mieloides presentes, en el periodo de preimplantación fueron localizadas, debido a que ellos presentan una actividad positiva a peroxidasa. Esta enzima es producida predominantemente por los eosinófilos³⁴ y su distribución fue la misma que en el caso de las células productoras de IL-1 y TNF α , concentrándose en el estroma subepitelial. Los neutrófilos también se presentan en cantidades importantes en el compartimento del estroma, particularmente en el día 1 postcoito.

La información aquí mencionada, parece evidenciar la presencia de una respuesta inflamatoria uterina mediada por células que aparecen después del apareamiento, en la que participan diversos leucocitos. Esta respuesta³⁵ fue comunicada por nuestro grupo de trabajo hace ya casi 20 años, a partir de experimentos realizados durante la capa-

citación *in vivo* del espermatozoide de conejo, con el fin de demostrar sus cambios metabólicos. Sin embargo, en esa época NO se supo interpretar la importancia y la función de los leucocitos. Por esa razón en la actualidad hemos retomado el problema bajo nuevas perspectivas, ya que los macrófagos y linfocitos presentes en el tracto reproductor femenino, probablemente participen en el desarrollo de mecanismos paracrinos. Un posible papel de estas células pudiera ser el favorecer la sincronía que debe existir en el proceso de implantación mediante la producción de citocinas.

Conclusiones

Hasta aquí, se han revisado las características más sobresalientes de algunas citocinas en el endometrio de mamíferos en etapas previas a la implantación del blastocisto. La similitud entre los cambios uterinos y la respuesta inflamatoria permiten proponer nuevos conceptos en apoyo de las bases moleculares del proceso de implantación, en donde las citocinas emergen como elementos inductores de los cambios uterinos. Al parecer estas moléculas cuentan con funciones muy variadas en dicho tejido que van, desde la migración, la activación y proliferación de los leucocitos que participan en la preñez (CSF-1, GM-CSF, TNF α), hasta la regulación de la mitosis y diferenciación de los componentes celulares endometriales (CSF-1, GM-CSF, IL-1, IL-6, LIF, TGF β y TNF α), requisito importante en la adquisición de la receptividad al embrión.

En la etapa de receptividad, el endometrio responde de dos maneras a la presencia del blastocisto. Primero con un aumento en la permeabilidad vascular y segundo con la diferenciación de las células estromales en deciduales. En el aumento de permeabilidad vascular participan diversas moléculas, prostaglandinas e histamina principalmente; es posible que el contenido total de estas sustancias vasoactivas se vea favorecido por el TNF α que conduce a la proliferación y activación de los macrófagos productores de prostaglandinas. De la misma manera, es factible que la IL-1 contribuya a elevar los niveles de la histamina, debido a que en parte modula la liberación y/o síntesis del vasoactivo. Junto con el au-

mento de la permeabilidad se forman nuevos vasos sanguíneos donde participan la IL-6 y el TGF β .

Entre los cambios endometriales más evidentes que acontecen en el embarazo temprano, se encuentra la formación de las células deciduales, las que tienen funciones paracrinas, nutricionales, inmuno y embrio reguladoras encaminadas a proteger al útero de la invasión del trofoblasto. Durante esta diferenciación, las células estromales adquieren características morfológicas y funcionales distintas a sus células de origen. Las células deciduales son productoras de una matriz rica en laminina, fibronectina, colágeno tipo IV y proteoglicanos. Además se sabe en la actualidad que la expresión de algunas citocinas específicamente el TGF β prepara la matriz extracelular y controla la invasividad de las células del trofoblasto y al mismo tiempo da protección al embrión de la respuesta inmunitaria materna.

Los autores del presente trabajo sugieren la existencia de un grupo de citocinas presentes en etapas previas a la implantación, las cuales participan en los mecanismos que operan durante el desarrollo del embrión hasta después de la implantación. Así mismo, se propone la participación de estos factores en regular de la expresión de moléculas de adhesión, así como en otros sucesos cruciales como es la respuesta inflamatoria. Este trabajo deja, por otra parte, un camino abierto para futuras investigaciones sobre los mecanismos que intervienen en los procesos de implantación embrionaria, los cuales pueden ser favorecidos o impedidos mediante el uso de citocinas específicas según el caso.

Referencias

1. Kennedy TG, Armstrong DT. The role of prostaglandins in endometrial vascular permeability changes at implantation. En: Cellular and molecular aspects of implantation. Glasser SR, Bullock DW (Eds) Plenum Publishing, NY 1976;349-363.
2. Fin CA. Implantation, menstruation and inflammation. Biol Rev 1986;61:313-328.
3. Slapsys R, Clark RM, Clark DA. Active suppression of the host vs graft reaction in pregnant mice. IV. Local suppressor cells in decidual and uterine blood. J Reprod Immunol 1982;4:355-640.
4. Tawfik OW, Hunt JS, Wood GW. Partial characterization of uterine Cells responsible for suppression of murine

maternal anti-fetal immune responses. *J Reprod Immunol* 1986;9:213-224.

5. Wegmann TG, Lin H, **Guilbert L** y col. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon?. *Immunology Today* 1993;14(7):353-356.
6. **Robertson SA**, Brannstrom M, Seamark RF. Cytokines in rodent reproduction and the cytokine endocrine interaction. *Curr Opin Immunol* 1992;4:585-590.
7. Stadnyk AW. Cytokine production by epithelial cells. *FASEB J* 1994;8:1041-1047.
8. **Robertson SA**, Mayrhofer G, Seamark RF. Uterine epithelial cells synthesize granulocyte macrophage colony-stimulating factor and interleukin-6 in pregnant and nonpregnant mice. *Biol Reprod* 1992;46:1069-1079.
9. Arceci RJ, Shanahan ER, Pollard **JW**. Temporal expression and location of colony-stimulating factor 1 (CSF-1) and its receptor in the female reproductive tract are consistent with CSF-1-regulated placental development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:8818-8822.
10. **Lejeune BJ**. Transmitter role of the luminal uterine epithelium in the induction of decidualization in rats. *J Reprod Fertil* 1981;61:235-240.
11. Bartocci A, Pollard **JW**, Stanley ER. Regulation of colony-stimulating factor 1 during pregnancy. *J Exp Med* 1986;164:956-961.
12. Croy BA, Guilbert LJ, Wegmann TG y col. Characterization of cytokine production by the metrial gland and granululated metrial gland cells. *J Reprod Immunol* 1991;19:149-166.
13. Daiter E, Pollard **JW**. Colony stimulating factor-1 (CSF-1) in pregnancy. *Reprod Med Rev* 1992;1:83-97.
14. **Robertson SA**, Seamark RF. Uterine granulocyte-macrophage colony stimulating factor in early pregnancy: cellular origin and potential regulators. En: Cellular and molecular biology of the maternal-fetal relationship. G Chauat, J Mowbray (Eds). Colloquium INSERM/John Libbey Eurotext Ltd. 1991;221:113-121.
15. Purchio AF, **Cooper JA**, Marquardt H y col. Identification of mannose 6-phosphate in two asparagine-linked sugar chains of recombinant transforming growth factor- β precursors. *J Biol Chem* 1988;263:14211-14215.
16. Tamada H, Michael T, Dey SK et al. Cell type-specific expression of transforming growth factor- β in the mouse uterus during the periimplantation period. *Mol Endocrinology* 1990;4:965-972.
17. Das SK, **Flanders KC**, Dey SK. Expression of transforming growth factor- β isoforms (β 2 and β 3) in the mouse uterus: Analysis of the periimplantation period and effects of ovarian steroids. *Endocrinology* 1992;130(6):3459-3466.
18. Roberis AB, Sporn MB. The transforming growth factor-betas. En: *Peptide growth factors and their receptors. Handbook of experimental pharmacology. Springer-Verlag, Heidelberg (Eds).* 1990;95(1):419-472.
19. Heino J, **Ignatz RA**, Massagué J y col. Regulation of cell adhesion receptors by transforming growth factor- β : concomitant regulation of integrins that share a β 1 subunit. *J Biol Chem* 1989;264:380-388.
20. Graham CH, Lysiak JJ, **McCrae KR** y col. Localization of transforming growth factor- β at the human fetal-maternal interface: role in trophoblast growth and differentiation. *Biol Reprod* 1992;46:561-572.
21. **Laiho M**, Keski-Oja J. Growth factors in the regulation of pericellular proteolysis: a review. *Cancer Res* 1989;49:2533-2553.
22. **Flaumenhaft R**, Abe M, **Mignatti P** y col. Basic fibroblast growth factor-induced activation of latent TGF β in endothelial cells: regulation of plasminogen activator activity. *J Cell Biol* 1992;118:901-909.
23. **Lala PK**, Graham CH. Mechanisms of trophoblast invasiveness and their control: the role of proteases and protease inhibitors. *Cancer Metastasis Rev* 1990;9:369-379.
24. **Yelavarthi KK**, Chen H-L, Hunt JS. Tumor necrosis factor α mRNA and protein in rat uterine and placental cells. *J Immunol* 1991;146(11):3840-3848.
25. Sims JE, March CJ, **Dower SK** y col. cDNA expression cloning of the IL-1 receptor, a member of the immunoglobulin superfamily. *Science* 1988;241:585-589.
26. Kauma S, Matt D, Turne T y col. Interleukin-1 β (IL-1 β), human leukocyte antigen HLA-DR α , and transforming growth factor- β (TGF- β) expression in endometrium, placenta and placental membranes. *Am J Obstet* 1990;163:1430-1437.
27. Sandford TR, Wood GW. Expression of interleukin 1, interleukin 6 and tumor necrosis factor α in mouse uterus during the peri-implantation period of pregnancy. *J Reprod Fertil* 1993;97:83-89.
28. Simón C, Frances A, Piquette GN, y col. Embryonic implantation in mice is blocked by interleukin-1 receptor antagonist. *Endocrinology* 1994;134(2):521-528.
29. Sandford TR, Wood GW. Interleukin-1, Interleukin-6 and tumor necrosis factor α are produced in the mouse uterus during the estrous cycle and are induced by estrogen and progesterone. *Dev Biol* 1992;151:297-305.
30. Motro B, **Itin A**, Keshet E y col. Pattern of interleukin 6 gene expression in vivo suggests a role for this cytokine in angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 Apr;87:3092-3096.
31. Bhatt H, Brunet LJ, Stewart CL. Uterine expression of leukemia inhibitory factor coincides with the onset of blastocyst implantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991 Dec;88:11408-11412.
32. **Papadimitriou JM**, Ashman RB. Macrophages: current views on their differentiation, structure and function. *Ultrastruct Pathol* 1989;13:343.
33. Tawfik OW, Hunt JS, Wood GW. Implication of prostaglandin E2 in soluble factor-mediated immune suppression by murine decidual cell. *Am J Immunol Microbiol* 1986;12:111.
34. Lee YH, Howe RS, Lyttle CR y col. **Estrogen** regulation of an eosinophil chemotactic factor in the immature rat uterus. *Endocrinology* 1989;125:3022.
35. Rosado A, Hicks JJ, Reyes A y col. Capacitation in vitro of rabbit spermatozoa with cyclic adenosine monophosphate and human follicular fluid. *Fertil Steril* 1974;25(9):821-824.