

**Parte
I**

Concepción y desarrollo del embrión

Crecimiento inicial del embrión y adaptaciones inmunobiológicas del embarazo

Kenneth H. H. Wong y Eli Y. Adashi

Para que la reproducción sea exitosa deben ocurrir numerosas e intrincadas secuencias e interacciones. Este proceso reproductivo comienza con la formación de los gametos masculinos y femeninos individuales, pero debe existir algún mecanismo posterior que permita un estrecho contacto entre ellos para que pueda tener lugar la fecundación. Después de la fecundación, el nuevo embrión debe desarrollarse adecuadamente e implantarse en un ambiente capaz de brindarle nutrición y sostén. Aunque la comprensión de estos procesos reproductivos ha experimentado un avance notable, una explicación detallada sobre la formación de los gametos, la fecundación y la implantación excedería los objetivos de este capítulo. El lector interesado puede consultar varios textos de excelente calidad, en los cuales hallará información más específica.^{1,2} En este capítulo se resumen conceptos claves acerca de los eventos evolutivos y fisiológicos relacionados con el crecimiento inicial del *conceptus* (los productos de la concepción, normalmente clasificados en embrión o feto según su etapa del desarrollo) y las adaptaciones inmunobiológicas del embarazo.

Gametogénesis

La gametogénesis es el proceso de maduración por medio del cual se producen gametos especializados: espermatozoides en los varones y ovocitos en las mujeres. Los procesos de citorreducción y división celular preparan a los gametos para la fecundación, que implica la unión de los gametos femenino y masculino. Con el propósito de mantener constante el número de cromosomas los gametos pasan por la meiosis, un tipo de división celular especializada por la cual se reduce el número diploide de cromosomas (46) al número haploide (23).

Cerca de las 5 semanas de gestación comienza la migración de las células germinales primordiales, probablemente por movimientos ameboidales, desde el saco vitelino hasta las crestas gonadales. Una vez que han migrado, las células germinales son rodeadas por células somáticas derivadas del mesonefros y dan origen a los cordones sexuales primarios.³

En la primera división meiótica, los cromosomas homólogos se aparean durante la profase. En la etapa de paquiteno, dentro de la profase, se produce la segregación independiente y la recombinación de material genético entre los gametos. Los cromosomas pareados se separan en la anafase, luego de lo cual

cada nueva célula hija contiene el número haploide de 23 cromosomas de doble estructura.

Poco después de la primera división, la célula ingresa en la segunda división meiótica: cada cromosoma de doble estructura se divide y origina dos cromosomas separados, cada uno de los cuales contiene una sola cromátide. Los productos resultantes incluyen cuatro células hijas, cada una con el número haploide de cromosomas. En consecuencia, un ovocito primario origina cuatro células hijas, cada una de las cuales recibe 22 autosomas y un cromosoma X; mientras que a partir del espermatozoides primario se forman cuatro células hijas, cada una con 22 autosomas y un cromosoma X o Y.

Fecundación

El desarrollo embrionario se inicia con el proceso de fecundación, que implica la unión del gameto femenino con el masculino (Fig. 1.). La fusión de dos células haploides, cada una con 22 autosomas y un cromosoma sexual, da como resultado una nueva célula cuya composición genética es diferente de la de ambos padres. La fecundación consiste en una secuencia regulada de interacciones que conducen al desarrollo de un embrión (Fig. 1.2).

Antes de que ocurra cualquier interacción entre el óvulo y el espermatozoide, debe producirse la maduración de los espermatozoides mediante el proceso denominado capacitación,^{4,5} en el cual el espermatozoide adquiere capacidad de fecundar mientras atraviesa el aparato reproductor femenino. La exocitosis inducida es la consecuencia final de la capacitación.⁶ La importancia de la capacitación fue reconocida desde hace mucho tiempo, con la observación inicial de que el espermatozoide capacitado puede atravesar el *disco prolífero* con rapidez.⁷ Los espermatozoides capacitados se caracterizan por poder producir la reacción acrosómica, la facilidad para unirse a la zona pelúcida y la adquisición de hiperactividad.

Los espermatozoides deben atravesar una serie de células y matrices, el disco prolífero (*cumulus oophorus*), antes de que se produzca cualquier clase de interacción con el óvulo. El disco prolífero está formado por células de la granulosa y por una matriz compuesta principalmente por ácido hialurónico y proteínas. La capacitación espermática y la hiperactivación de la movilidad parecen ser importantes para que los espermato-

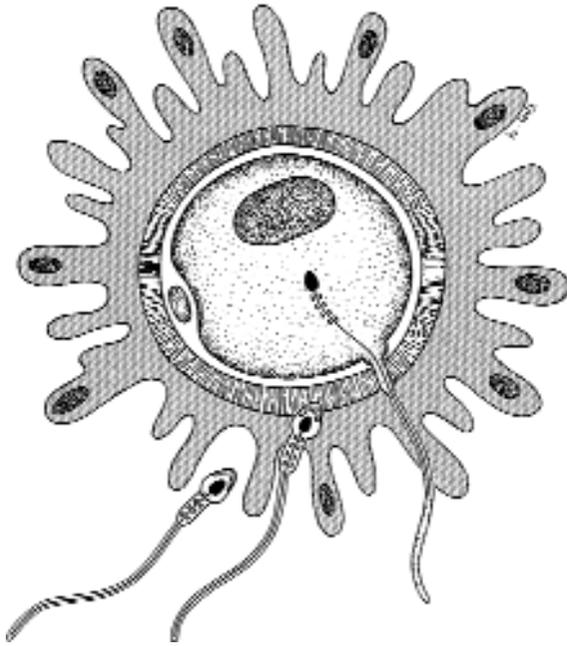


Figura 1.1 Fecundación. Se muestra un espermatozoide que penetra en un ovocito. El espermatozoide debe pasar antes por la capacitación para poder penetrar el disco prolífero (revestimiento de células y matriz que rodea al ovocito). Después de penetrarlo, el espermatozoide se une a la zona pelúcida por medio de receptores específicos. Las membranas del espermatozoide y del ovocito se fusionan. El espermatozoide y su cola ingresan en el ovocito y dejan atrás la membrana plasmática espermática.

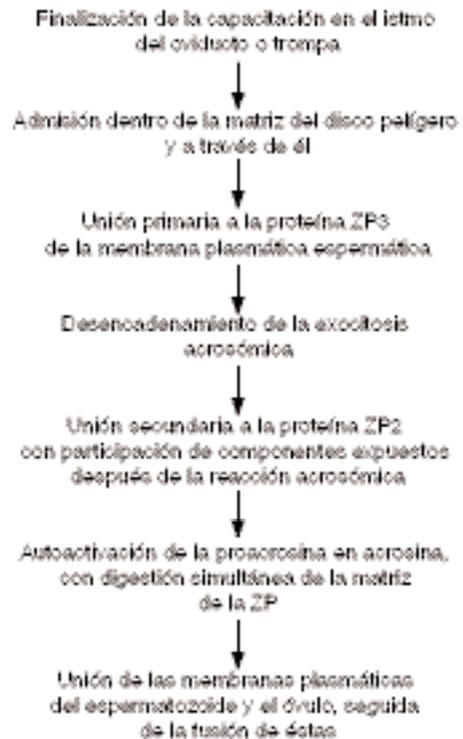


Figura 1.2 Secuencia propuesta para explicar la interacción entre los gametos de los mamíferos. ZP: zona pelúcida. (Adaptado de ref. 35, con autorización.)

zoides puedan penetrarlo. Las investigaciones demostraron que la proteína espermática PH-20 también interviene en la penetración de la matriz del disco prolífero.⁹ Aunque esta proteína degrada el ácido hialurónico y tiene propiedades similares a las de la hialuronidasa, la función exacta de esta enzima aún no está clara.

La zona pelúcida es una capa glucoproteica acelular que cubre y protege al óvulo y constituye la última barrera física que deben atravesar los espermatozoides antes de fertilizarlo. La interacción inicial entre los espermatozoides y la zona pelúcida ovocitaria parece ser un proceso mediado por receptores. La zona pelúcida está compuesta principalmente por tres proteínas altamente glucosiladas: ZP1, ZP2 y ZP3.^{9,10} Se han realizado estudios exhaustivos, sobre todo en ratones, cuyos resultados muestran que las proteínas ZP2 y ZP3 tienen una función en la unión espermática, mientras que la ZP1 cumple un papel estructural.^{5,11} Además, se ha demostrado que la ZP3 es responsable de la unión primaria del espermatozoide (antes de la reacción acrosómica) y actúa como disparador de la reacción acrosómica, mientras que la ZP2 está involucrada en la unión secundaria (unión a los espermatozoides luego de la reacción acrosómica).^{12,13}

La reacción acrosómica incluye la fusión entre la membrana plasmática del espermatozoide y la membrana acrosómica, con exocitosis del contenido enzimático del acrosoma, entre cuyas enzimas se incluyen la hialuronidasa y la acrosina, las cuales

parecen intervenir en la penetración de la zona pelúcida. Además, la reacción acrosómica modifica las membranas de la cabeza del espermatozoide, como preparación para la fusión de la membrana interna del acrosoma con la membrana plasmática del ovocito. Los espermatozoides con el acrosoma intacto no tienen la capacidad de fusionarse con los ovocitos.¹⁴ En consecuencia, la reacción acrosómica es un prerrequisito necesario para la fusión del espermatozoide con la membrana ovocitaria.

Una vez que penetró la zona pelúcida, el espermatozoide ingresa en el espacio perivitelino en un determinado ángulo, para cruzarlo rápidamente. Luego, se une a la membrana plasmática del ovocito (ovolema), para completar en poco tiempo el ingreso de toda la cabeza en el citoplasma ovocitario (ovoplasma). Se produce entonces la fusión de las membranas del óvulo y el espermatozoide, en un proceso mediado por proteínas específicas, una de las cuales es la fertilina (antes llamada PH-30).^{8,15} Esta proteína de la membrana espermática parece unirse al ovolema, por medio de un mecanismo mediado por receptores de integrinas.⁸ Tras la fusión se inicia una serie de eventos bioquímicos y morfológicos dentro del óvulo fecundado.

Con la fusión de las membranas del óvulo y el espermatozoide se inician reacciones a nivel cortical y de la zona pelúcida, con liberación de gránulos corticales en el ovocito; el ovolema se vuelve entonces impenetrable para los espermatozoides. La zona pelúcida altera también su estructura, posiblemente debido a una reorganización de las proteínas ZP2 y ZP3, lo que

evita la unión de nuevos espermatozoides.⁵ Estos mecanismos primarios están dirigidos al bloqueo de la polispermia.

Junto con las reacciones de zona y cortical, dentro del ovocito se activan una serie de eventos bioquímicos y moleculares, después de la fusión espermático-huevo, que comienzan por la liberación transitoria del calcio intracelular, con un patrón oscilatorio repetitivo.^{16,17} Estos pulsos de calcio podrían ser originados por la despolarización de la membrana y se propagarían por la producción de inositol trifosfato; asimismo, la liberación de calcio induce exocitosis de los gránulos corticales. Por último, estos eventos conducen a la iniciación del ciclo celular y a la síntesis de DNA.

En el momento de la iniciación, el ovocito reanuda la segunda división meiótica, que se encontraba detenida en metafase 2. Una de las células hijas se extruye y forma el segundo cuerpo polar, en tanto la otra célula hija, que contiene el número haploide de cromosomas, se convierte en el ovocito definitivo. La restauración del número diploide es el resultado de la adición de los cromosomas del espermatozoide en el momento de la fecundación.

El pronúcleo femenino se forma de los cromosomas maternos presentes en el ovocito. Mientras tanto, la cromatina de la cabeza del espermatozoide se descondensa, al tiempo que la cabeza aumenta de tamaño dentro del ovoplasma y forma el pronúcleo masculino. Los dos pronúcleos se agrandan y migran uno hacia el otro en el centro del ovocito fecundado, y a medida que se acercan desaparecen sus membranas. Luego comienza la singamia, en tanto los cromosomas se condensan durante la primera división celular.

Embrión preimplantatorio

Las etapas iniciales del crecimiento embrionario, luego de la fecundación, se caracterizan por la rápida división celular (Fig.

1.3). Este aumento inicial en el número resulta crítico, ya que el embrión debe contar con un número suficiente de células que le permita comenzar los procesos de diferenciación. Estas células se conocen como blastómeras. A partir de la primera división, que ocurre alrededor de 24 a 30 horas después de la fecundación, las blastómeras van reduciendo su tamaño en las sucesivas divisiones. Hasta el estadio de ocho células, las blastómeras se disponen en un macizo poco compacto; sin embargo, al continuar esta etapa de segmentación, comienzan a integrarse en una masa celular caracterizada por la formación de uniones estrechas y en hendidura, también llamadas uniones *gap*.^{18,19} En este proceso de compactación las células internas son segregadas de las externas, lo que marca el comienzo de la diferenciación embrionaria. Alrededor de los 3 días desde la fecundación, la masa de células con aspecto de mora –de ahí su denominación de mórula– ingresa en el útero.

El siguiente evento en el desarrollo del embrión es la formación de una cavidad llena de líquido: el blastocele. Con la formación del blastocisto se produce la partición de las células entre un macizo celular externo, el embrioblasto, y un macizo celular externo que dará origen al trofoectodermo. En la formación del blastocisto y el trofoectodermo parece ser importante la función de la cadherina E, una molécula relacionada con las uniones intercelulares.²⁰ Esta polarización de las blastómeras posibilita la diferenciación en tres capas de tejido primitivas: endodermo, mesodermo y ectodermo. El endodermo primitivo se origina de una capa de células aplanadas, el hipoblasto, que se ubica en la superficie del macizo celular interno, en contacto con el blastocele. Por su parte, tanto el mesodermo como el ectodermo se desarrollan del epiblasto, la capa de células columnares altas del macizo celular interno.

Hasta esta etapa de su crecimiento, el blastocisto aún está completamente rodeado por la zona pelúcida, cuya principal función parece ser el bloqueo de la polispermia. Sin embargo, antes de la implantación es necesario que el embrión se despo-

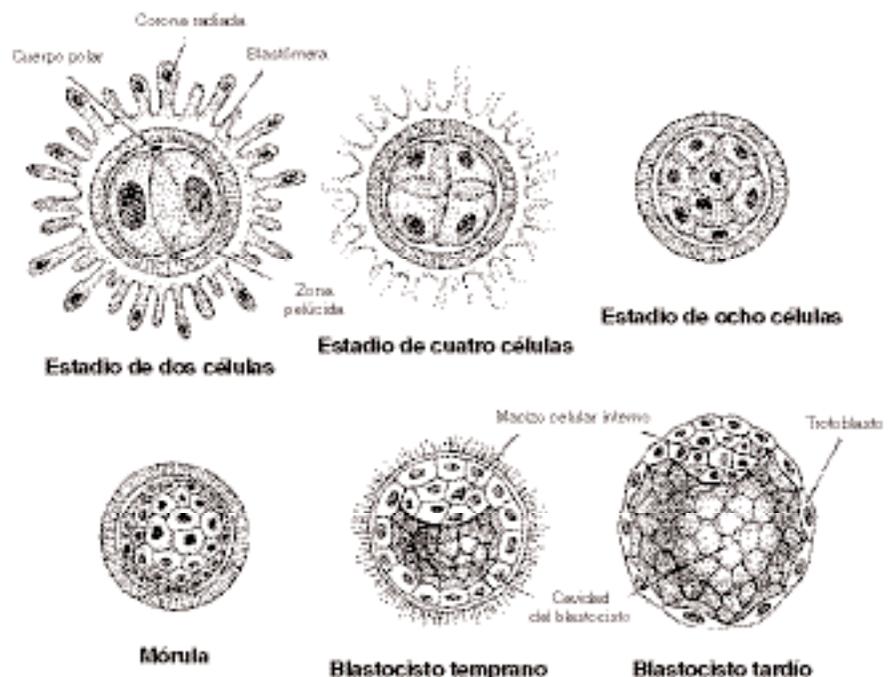


Figura 1.3 Segmentación y blastogénesis. La segmentación se produce por etapas y determina la formación de las blastómeras. La mórula está compuesta por 12-16 blastómeras. El blastocisto se forma cuando existen unas 60 blastómeras. Puede verse que la zona pelúcida ha desaparecido en la etapa de blastocisto tardío. Hasta que se libera de la zona pelúcida, el embrión en desarrollo no aumenta de tamaño.

je de la zona pelúcida, a fin de permitir el crecimiento del macizo celular interno y posibilitar el contacto entre el embrión y el endometrio. Esto se logra por el proceso de eclosión (*hatching*), en el cual el embrión efectúa una sucesión de contracciones y expansiones, para deslizarse fuera de su cobertura a través de un orificio por medio de movimientos activos. En los ratones, el orificio inicial de la zona pelúcida se produce por efecto de la enzima tripsina,²¹ mientras que en los seres humanos el mecanismo exacto aún se desconoce y el proceso de eclosión sólo se ha podido observar *in vitro*.²²

Luego de ingresar en el útero, el blastocisto en desarrollo permanece flotando dentro de la cavidad uterina durante unos 2 a 3 días. La implantación del embrión comienza alrededor de los 6 días desde la fecundación, mientras que el desarrollo de las capas germinales primitivas ocurre entre los días 6 y 8. Luego de la implantación inicial, el embrión queda completamente incluido en el endometrio, cerca de los 8-9 días después de la ovulación.

Metabolismo intermediario en el embrión en desarrollo

Al igual que todas las demás células, el embrión en desarrollo tiene necesidades nutritivas y cuenta con escasas reservas de nutrientes, por lo cual deberá depender de fuentes externas. Esas necesidades metabólicas pueden variar en relación con cada etapa del desarrollo embrionario. El piruvato es un nutriente de particular interés, ya que parece ser la principal fuente de energía al principio del desarrollo embrionario, en tanto que el metabolismo de la glucosa se activa en etapas más tardías de la segmentación. Aparte del piruvato y la glucosa, existen numerosos nutrientes y estimulantes embrionarios, como los aminoácidos, los intermediarios reguladores del calcio y los neutralizadores (*scavenger*) de radicales libres, por nombrar sólo algunos (véase Fig. 1.4).

Síntesis de moléculas en el embrión en desarrollo

En sus etapas iniciales, el embrión muestra un alto nivel de actividad metabólica y es capaz de sintetizar y secretar numerosas macromoléculas, las cuales tienen efectos diversos sobre los resultados de la implantación, la placentación y el mantenimiento del embarazo.

Una de las primeras sustancias secretadas por el embrión preimplantatorio es el factor activador de las plaquetas (*platelet activating factor*, PAF), un fosfolípido soluble en éter. La correlación entre la producción de PAF derivado del embrión y el potencial gestacional de los embriones sugiere que dicho factor podría cumplir una función importante en el afianzamiento de la gestación.²³ Aparentemente, los embriones humanos liberan cantidades variables de PAF dentro de las primeras 48 horas después de la fecundación.²⁴ Spinks y O'Neill presentaron pruebas concluyentes acerca del papel esencial que tiene el PAF en el momento de establecerse el embarazo, ya que lograron inducir fallas de implantación en animales con la utilización *in vivo* de inhibidores del PAF.²⁵

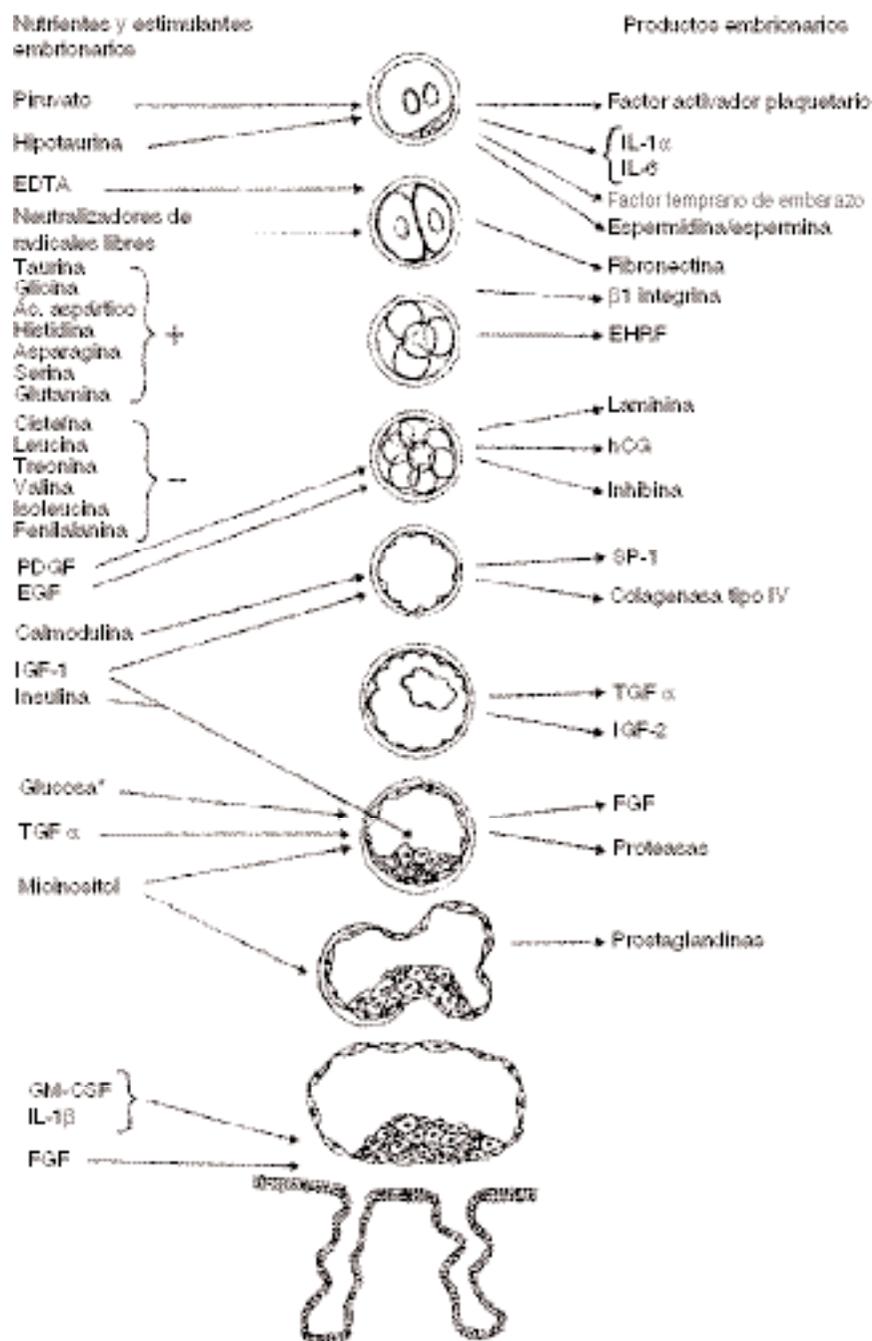
La gonadotropina coriónica humana (hCG) es una glucoproteína compuesta por una subunidad α y otra β , con secuencias de aminoácidos similares a las de la hormona luteinizante, que es producida por el trofoblasto humano en sus etapas iniciales, comenzando aproximadamente en el estadio de ocho células. Esta hormona es esencial para la supervivencia del embrión, ya que estimula la producción de progesterona por el cuerpo lúteo, y evita así la luteólisis y la menstruación. En los seres humanos la implantación tiene lugar en el sexto día de la ovulación, mientras que la hCG resulta mensurable por primera vez en el noveno día posterior a la ovulación.²⁶ La producción de hCG por blastocistos humanos *in vitro* se ha correlacionado con su morfología y maduración; se observó que los mejores embriones producen cantidades superiores de hCG.²⁷

La descripción del factor temprano de embarazo (*early pregnancy factor*, EPF) se basó en las alteraciones de la reactividad linfocitaria encontradas en la prueba de rosetas para linfocitos, diseñada para evaluar las características inmunosupresoras del suero antilinfocitario *in vitro*.²⁸ El aislamiento de EPF en los medios de crecimiento embrionario se comprobó en varias especies y se le ha atribuido un papel inmunosupresor, posiblemente por la modulación del sistema inmunitario materno.²⁹ Identificado hace poco como parte de una familia de moléculas de choque térmico muy conservadas, el EPF está compuesto por una secuencia de aminoácidos que presenta una homología cercana al 70% con la chaperonina 10 y podría intervenir en la unión de las proteínas.³⁰ El EPF se positiviza en el suero materno ya a las 24-48 horas después de la concepción, por lo que podría resultar de utilidad para evaluar el fracaso gestacional temprano;³¹ asimismo, podría permitir la diferenciación entre las alteraciones menstruales y los abortos precoces espontáneos.

El cigoto humano produce *in vitro* un factor que es directamente inmunosupresor,³² (*immunosuppressive factor*, IF). Este efecto directo diferencia el IF de los efectos inmunosupresores del EPF o el PAF derivado del embrión. El factor obtenido en los medios de cultivo de embriones humanos luego de la fecundación *in vitro* suprime la proliferación de los linfocitos periféricos inducida por mitógenos, y sólo los embriones que producen este factor dan lugar a un embarazo. La presencia de IF asociados con el embrión en las diferentes etapas de la gestación podría participar en la supresión de la respuesta inmunitaria celular materna, lo cual evita el rechazo del aloinjerto fetal por parte de la madre. Aunque inicialmente se pensaba que el IF proviene del embrión en desarrollo, evidencias recientes lo localizan en las células deciduales.³³

Si bien el mecanismo aún no se ha dilucidado, se considera que la histamina cumple un papel en la implantación del blastocisto, ya que se ha identificado un factor liberador de histamina de origen embrionario (*embryo-derived histamine releasing factor*, EHRF) en los medios de cultivo utilizados para el crecimiento embrionario.³⁴ El EHRF es dependiente de la temperatura y del calcio, e induce la liberación de histamina por las células basales sensibilizadas. Aún no se ha establecido la función de este factor, pero se considera que podría representar un mensaje enviado por el embrión hacia la madre para inducir la liberación de histamina en el momento de la implantación.

Figura 1.4 Nutrientes y productos de secreción embrionarios. EDTA: ácido etilendiaminotetraacético; EGF: factor de crecimiento epidérmico; EHRF: factor liberador de histamina derivado del embrión; FGF: factor de crecimiento fibroblástico; GM-CSF: factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos; hCG: gonadotropina coriónica humana; IGF: factor de crecimiento similar a la insulina; IL: interleucina; PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas; TGF: factor transformador de crecimiento. (De ref. 55, con autorización).



Citocinas y factores de crecimiento que regulan la implantación

La implantación embrionaria constituye un estadio crítico en el desarrollo, una sincronización continua entre el embrión y una compleja serie de eventos moleculares y celulares inducidos en el útero por los estrógenos y la progesterona. Gran parte de este “diálogo” entre el embrión y el ambiente materno está mediado por mecanismos autocrinos y paracrinos, por medio de citocinas y factores de crecimiento producidos tanto por el embrión como por el útero. Pese a que existe una gran cantidad de información referida a la participación de las citocinas y los factores de crecimiento en la implantación, aún no se conocen por completo los detalles de este mecanismo. El lector interesado puede consultar varias revisiones para lograr una com-

presión más acabada sobre este tema.^{35,36} Al menos tres citocinas parecen participar en la implantación: el factor estimulante de colonias 1 (*colony-stimulating factor 1*, CSF-1), el factor inhibidor de la leucemia (*leukemia inhibitory factor*, LIF) y la interleucina 1 (IL-1).³⁷

Aposición y adhesión del embrión al endometrio

El blastocisto permanece libre en la cavidad endometrial durante unos 2 días antes de la implantación, que comienza cuando el embrión se ubica en estrecha aposición con el epitelio endometrial (Fig. 1.5). El contacto inicial se realiza en el

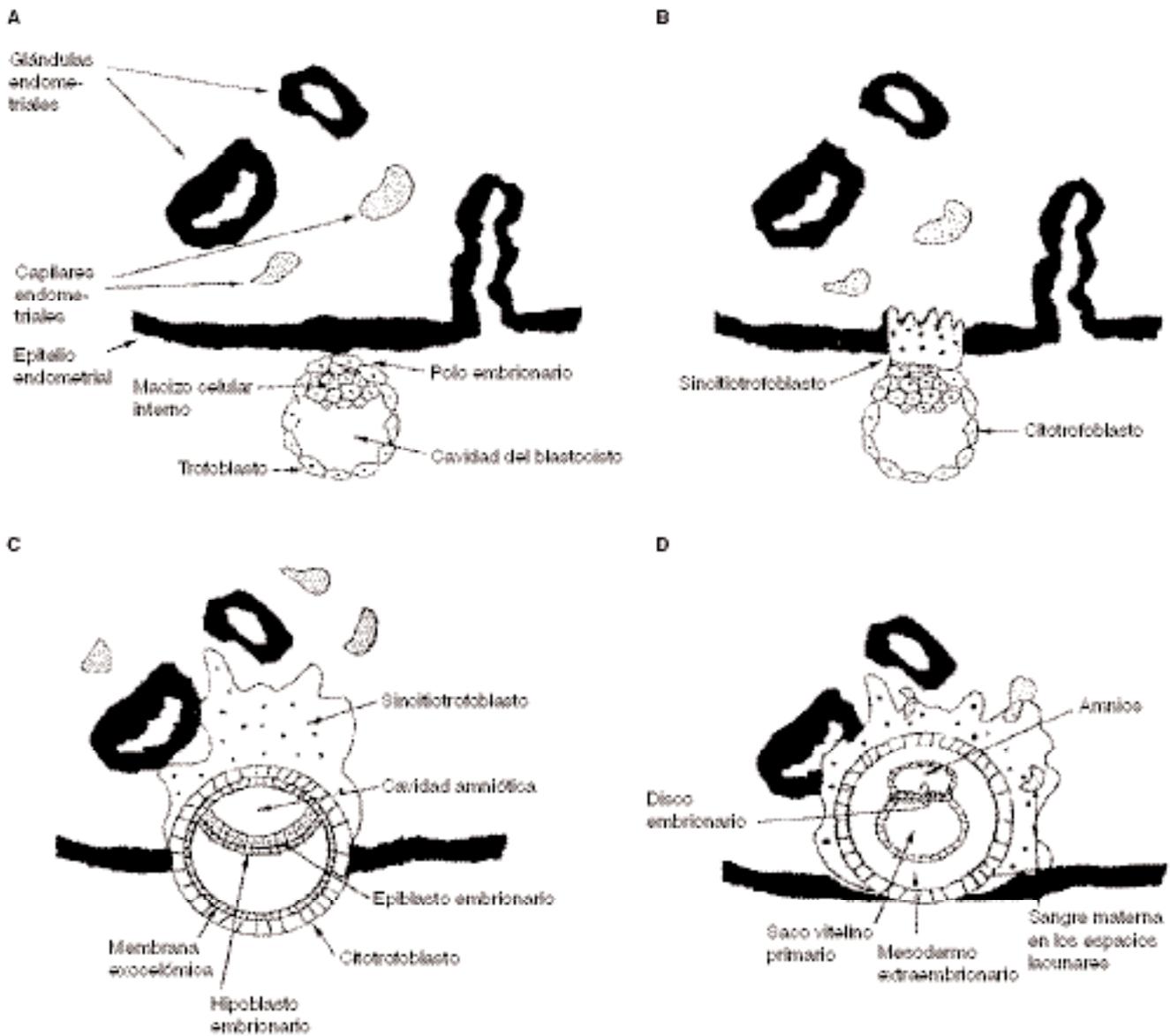


Figura 1. 5 Implantación. A) Luego de flotar libremente durante 2 días, el trofocitotrodo polar del embrión se yuxtapona al epitelio endometrial. B) Comienza la penetración con una rápida proliferación y diferenciación en dos tipos celulares, el citotrofoblasto y el sincitiotrofoblasto. El sincitiotrofoblasto, una masa celular multinucleada sin límites intercelulares, se extiende a través del epitelio endometrial hasta penetrar en la estroma. C) El macizo celular interno se diferencia en epiblasto, que dará origen al mesodermo y al ectodermo, y en hipoblasto, a partir del cual se forma el endodermo. D) El embrión queda completamente incluido a los 7-13 días después de la ovulación.

trofocitotrodo polar. La aposición parece favorecer el funcionamiento eficaz de las proteínas de unión complementarias del embrión y el epitelio endometrial durante la implantación, por medio de interdigitaciones entre las células epiteliales y el trofoblasto con las microvellosidades.

La adhesión del blastocisto al epitelio endometrial estaría mediada por complejos ligando-receptor. La expresión de moléculas específicas de adhesión, como las integrinas, tanto en el embrión como en los receptores y sustratos específicos, entre los cuales se incluyen laminina, fibronectinas y colágeno

IV en la decidua y el epitelio uterino, parece estar en relación con los complejos ligando-receptor. Después de adherirse al epitelio uterino, el blastocisto comienza a penetrar a través de la membrana basal e ingresa en la estroma del útero.

Penetración del epitelio

Inmediatamente después de la adhesión, el blastocisto comienza a penetrar en el epitelio endometrial y la estroma

(Fig. 1.5), para lo cual las células del trofoblasto tienen que degradar y remodelar a ambos. En consecuencia, los embriones deben producir moléculas específicas y otras enzimas, que colaboren en el proceso de penetración; asimismo, debe existir una delicada coordinación entre el embrión que invade y el endometrio subyacente, que evite una penetración excesiva a fin de lograr una invasividad adecuada.

Entre las enzimas y demás moléculas implicadas en la implantación, se incluyen las proteasas, proteinasas y sus inhibidores, que intervienen en la degradación de la matriz extracelular. Existe un alto grado de reorganización tisular, que tiene lugar durante la implantación. Aunque se sabe que los compuestos antes mencionados cumplen un papel primordial en la implantación, hasta el momento su significación no se ha aclarado por completo. Es necesario efectuar nuevos estudios que permitan dilucidar si uno o más de estos sistemas intervienen en la penetración embrionaria, o si se trata de sistemas redundantes que sirven como reaseguro, en caso de que alguno pierda su eficacia.

Trofoblasto humano inicial

El blastocisto se adosa al revestimiento endometrial por su polo embrionario a los 6 días desde la fecundación (Fig. 1.5), para iniciar luego una etapa de rápida proliferación celular, con diferenciación del trofoblasto en dos capas: el citotrofoblasto interno y el sincitiotrofoblasto externo, que es una masa de células multinucleadas con pérdida de los límites intercelulares. Los procesos de trofoblasto sincitial se extienden a través del epitelio del endometrio hasta invadir la estroma de éste; asimismo, las células estromales que rodean al sitio de implantación se cargan de lípidos y glucógeno, adoptan una forma poliédrica y se definen como células deciduales. Las células deciduales correspondientes a la región del sincitiotrofoblasto invasor sufren procesos de degeneración que les permiten brindar nutrición al embrión en desarrollo. El blastocisto se implanta de manera superficial en la capa compacta del endometrio hacia fines de la primera semana. El trofoblasto invade entonces el miometrio circundante, hasta que el blastocisto queda completamente incluido en la decidua. A medida que se produce la invasión trofoblástica se van formando las conexiones capilares, con lo cual se establece el aporte de sangre al feto en desarrollo, la cual le proveerá nutrición y sostén hasta el momento del nacimiento.

Adaptaciones inmunobiológicas del embarazo

La principal función del sistema inmunitario es la protección del cuerpo frente a la invasión por organismos extraños y sus productos tóxicos; para ello es necesario tener la capacidad de discriminar entre antígenos propios y ajenos, a fin de poder dirigir la respuesta inmunitaria contra los agentes invasores y no contra los propios tejidos. En el embarazo, el feto antigénicamente extraño crece en el seno de la madre durante 9 meses sin ser atacado por el sistema inmunitario, por lo que surge con claridad que deben existir adaptaciones inmunobiológicas en la

gestación, cuya importancia resulta fundamental para la supervivencia del feto, al tiempo que la madre conserva su capacidad de defensa ante las infecciones.

Interfaz maternofetal

Trofoblasto

El feto en sí mismo no entra en contacto directo con los tejidos maternos, sino que existe una interfaz entre la madre y el feto, compuesta por el trofoblasto placentario y las membranas fetales. Se establecen dos áreas de contacto entre la madre y el feto: 1) una gran superficie formada por el sincitiotrofoblasto de las vellosidades coriónicas, bañada por la sangre materna, y 2) el trofoblasto extravelositario ubicado entre las deciduas (formado principalmente por citotrofoblasto con algunos elementos sincitiales), que se entremezcla directamente con los tejidos maternos.

Tráfico de células entre la madre y el feto

El sincitiotrofoblasto de las vellosidades, adyacente a la sangre materna, y el citotrofoblasto extravelositario que está en contacto con las deciduas, son las principales localizaciones en las cuales los linfocitos de la madre pueden sensibilizarse a los trofoblastos. Sin embargo, la interfaz entre la madre y el feto está abierta al pasaje de células fetales hacia la circulación materna, las cuales transportan antígenos fetales hacia otras localizaciones del sistema inmunitario materno, donde también pueden desencadenar respuestas (Cuadro 1.1).

Deportación de trofoblasto

El ingreso de células trofoblásticas en la circulación materna es un hecho conocido desde hace varios años³⁸ y que puede ocurrir por dos mecanismos. En primer lugar, algunas yemas de trofoblasto (denominadas brotes sincitiales), que surgen habitualmente en la superficie del sincitiotrofoblasto, pueden liberarse y entrar en la sangre materna. Esta disrupción del sincitiotrofoblasto también puede provocar el ingreso del citotrofoblasto vellositario subyacente en la circulación materna. En forma alternativa, puede ocurrir que el citotrofoblasto endovascular que cubre las arterias espiraladas sea transportado a distancia por el torrente circulatorio. Existen evidencias del ingreso de células multinucleadas (sincitiotrofoblasto) y mononucleadas (citotrofoblasto) en la vena uterina de la madre,³⁹ pero aún no se ha establecido si las células mononucleares se originan en el citotrofoblasto vello-

Cuadro 1.1 Contacto entre los tejidos maternos y fetales

Local	Sincitiotrofoblasto que cubre el espacio intervuloso Citotrofoblasto en la decidua
Sistémico	Eritrocitos y leucocitos fetales ingresan en la sangre materna Deportación del trofoblasto

sitario o en el extravelositario. También se han planteado importantes controversias acerca de en qué medida ingresan los trofoblastos en la circulación periférica durante el embarazo,⁴⁰ y si pueden quedar atrapados en el pulmón.⁴¹

Tráfico de células hemáticas fetales

A diferencia de las células placentarias, el contacto directo de las células fetales con las maternas sólo puede producirse por el pasaje de sangre del feto dentro de la circulación de la madre. En la actualidad hay suficiente evidencia que confirma el ingreso de eritrocitos fetales nucleados en la sangre materna a comienzos del embarazo;⁴² se puede presuponer también que al mismo tiempo se produce el pasaje de leucocitos fetales.⁴³ En consecuencia, parecería que la cantidad de células que atraviesan la barrera placentaria es mayor a medida que crecen la placenta y el feto.⁴⁴ Se presume que las células fetales se hacen presentes como consecuencia de hemorragias fetomaternas, aunque el mecanismo por el cual esto ocurre aún no se ha dilucidado.

Células inmunitarias maternas en la decidua

La decidua es el tejido en el cual es más probable que se produzca el reconocimiento inmunitario de los trofoblastos. Según se demostró en estudios inmunohistológicos y por citometría de flujo efectuados sobre decidua del primer trimestre en la que se comprobó invasión por el trofoblasto, ésta se compone principalmente de células inmunes.⁴⁵ Alrededor del 10% de las células estromales son linfocitos T (si bien casi no hay células B) y el 20% son macrófagos.⁴⁶ Ambos tipos celulares son esenciales en las respuestas de rechazo del injerto mediadas por células. No obstante, la principal población de células inmunes está representada por linfocitos granulocitos grandes o células naturalmente citotóxicas (*natural killer*, NK), que corresponden al 45% de las células decidualas.⁴⁷ Los estudios inmunohistológicos demuestran que el citotrofoblasto extravelositario está en estrecho contacto con estas células inmunes, lo cual lleva al interrogante de cómo evitan los trofoblastos el reconocimiento y el rechazo por el sistema inmunitario materno.

Respuestas inmunitarias maternas al trofoblasto

Expresión de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad por el trofoblasto

La respuesta del sistema inmunitario de la madre a las células del trofoblasto dependerá del grado de expresión de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (*major histocompatibility complex*, MHC) por dichas células. Esta área es objeto de intensas investigaciones. Mediante estudios que utilizan anticuerpos monoclonales capaces de reconocer todas las variantes de los antígenos de clase I (*human leukocyte antigen*

Cuadro 1.2 Expresión del complejo mayor de histocompatibilidad en el desarrollo humano

	MHC de clase I		MHC de clase II
	HLA-G	HLA-A, -B, -C	HLA-DR, -DP, DQ
Ovocito	-	-	-
Esperma	-	-	-
Blastocisto	+	?	?
Sincitiotrofoblasto	-	-	-
Citotrofoblasto vellositario	-	-	-
Citotrofoblasto extravelositario	+	-	-
Tejido fetal	-	+	+

MHC: complejo mayor de histocompatibilidad (*major histocompatibility complex*); -, antígeno ausente; +, antígeno presente; ?, aún desconocido.

HLA-A], HLA-B y HLA-C), se demostró que, aunque el sincitiotrofoblasto y el citotrofoblasto vellositario subyacente eran negativos para los antígenos de clase I, el citotrofoblasto intravellositario invasor, tanto en el lecho placentario como en el amnios y el corion, expresaba con fuerza los mencionados antígenos.⁴⁸ Los análisis bioquímicos^{49,50} y moleculares⁵¹ posteriores demostraron que el antígeno de clase I del trofoblasto en realidad es el HLA-G, que se diferencia de HLA-A, -B y -C por ser un antígeno no polimorfo y de peso molecular más bajo. Esta última característica se debe a un codón de terminación en el exón 6, que da lugar a la transcripción de una proteína con terminación citoplasmática truncada.⁵²

Los estudios con anticuerpos policlonales confirmaron que la proteína HLA-G se expresa sólo en el citotrofoblasto extravelositario⁵³ (Cuadro 1.2). Los antígenos de superficie de clase I o clase II no son expresados por los ovocitos⁵⁴ ni por los espermatozoides, si bien se ha informado de la expresión de mRNA para HLA-B y -G en estos últimos.⁵⁵ Asimismo, los ovocitos parecen ser negativos tanto para los antígenos de clase I como de clase II. También se creía que los embriones en etapa de segmentación y los blastocistos eran negativos para los antígenos de clase I,⁵⁶ pero no hay evidencias de que una proporción de los blastocistos expresen mRNA y proteína HLA-G, los cuales pueden estar asociados con tasas de segmentación más rápidas.⁵⁷ Por lo tanto, la expresión de HLA-G en este estadio parece ser vital para la protección del embrión mientras se implanta en la decidua.

Papel inmunorregulador del HLA-G

Se sabe que hay moléculas solubles HLA de clase I dispersas en el suero de pacientes con trasplantes de órganos sin buena compatibilidad HLA.⁵⁸ Se considera que estos antígenos solubles de clase I, derivados de los donantes, pueden prolongar la supervivencia del implante, por inhibición de la actividad de linfocitos citotóxicos alorreactivos,⁵⁹ lo cual puede ocurrir por unión a los receptores de la célula T o a su correceptor CD8, que induce la apoptosis de las células T citotóxicas.⁶⁰ Asimismo, se ha postulado que el antígeno soluble HLA-G podría esparcirse por la superficie trofoblástica y así eliminar

Cuadro 1.3 Propiedades y funciones del HLA-G

Expresión proteica limitada al citotrofoblasto extravelositario
 Existe tanto en formas solubles como unido a las membranas
 La cadena pesada (40 kDa) tiene una terminación citoplasmática truncada
 Puede presentar polimorfismos limitados o ser no polimorfo
 Forma complejos de clase I con β_2 -microglobulinas y péptidos antigénicos
 Expresión asociada con TAP1
 Parece no estimular las respuestas maternas mediadas por linfocitos T
 Regula por inhibición la citotoxicidad mediada por linfocitos NK

Linfocitos NK, *natural killer* o naturalmente citotóxicos; TAP1, transportador asociado con la presentación de péptidos.

las células T citotóxicas maternas, a través de un mecanismo similar.⁶¹ Se han obtenido evidencias acerca de la existencia de una molécula soluble de HLA-G, tanto a nivel molecular⁶² como proteico,⁵⁰ que sustentan esta hipótesis; asimismo, en otros estudios se demostró que el HLA-G se une al CD8.⁶³

La expresión de HLA-G también puede cumplir un papel protector del trofoblasto, ya que el HLA-G inhibe la proliferación de linfocitos T CD4+,⁶⁴ al tiempo que disminuye la producción de interferón gamma (IFN- γ) y de factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α) por las células deciduales.⁶⁵ El agregado de HLA-G en cultivos mixtos de linfocitos incrementa la producción de interleucina (IL) 10 y reduce la de FNT- α , lo cual provoca un cambio del fenotipo Th 1 al Th 2.⁶⁶

Protección frente al ataque por células NK

Parecería que, en términos evolutivos, para el trofoblasto sería más sencillo no expresar antígenos de clase I del MHC, evitando así el reconocimiento inmunitario; sin embargo, una de las mayores amenazas para el trofoblasto que invade la decidua está representada por los linfocitos grandes con granulaciones o células NK, ya que éstas tienen como principal objetivo las células que carecen de antígenos de clase I del MHC. La presencia de antígenos de clase I en la superficie de las células se considera esencial para la protección frente al ataque mediado por células NK. Experimentos con líneas celulares han demostrado que las variantes con bajos niveles de expresión de antígenos de clase I son muy susceptibles a la lisis mediada por células NK,⁶⁷ mientras que la transfección con genes de los antígenos de clase I clásicos y de HLA-G puede brindar cierta protección.^{61,68} En consecuencia, la expresión de HLA-G podría resultar esencial para proteger al citotrofoblasto extravelositario de las células NK deciduales.^{69,70} Así, es posible que el HLA-G desempeñe una función dual en la protección del trofoblasto, tanto frente a las células T citotóxicas como a las células NK.

Las propiedades y las posibles funciones del antígeno HLA-G se resumen en el Cuadro 1.3.

Respuestas inmunitarias maternas ante el tráfico celular**Leucocitos fetales**

La expresión de antígenos de clase I en la placenta se produ-

ce temprano en el mesénquima de las vellosidades coriónicas, ya desde las 2,5 semanas, aunque en ese momento es esporádica y de escasa magnitud. Por su parte, las células positivas para antígenos de clase II pueden encontrarse en la placenta a las 14 semanas de gestación.⁷¹ Dentro del feto, las células positivas para antígenos de clases I y II se han identificado en el epitelio tímico a las 7 semanas.⁷² En consecuencia, si los leucocitos fetales ingresan en la circulación materna tienen la potencialidad de estimular respuestas inmunitarias en la madre.

Respuestas de anticuerpos

Los aloanticuerpos contra el HLA fetal, de origen paterno, pueden aparecer durante una primera gestación⁷³ y también después de un aborto,⁷⁴ lo cual indica que la inmunización no siempre es el resultado de eventos que ocurren en el parto, aunque suele presentarse después de las 28 semanas, con una incidencia que crece con la paridad.⁷⁵ Estos anticuerpos no aparecen en todos los embarazos, sino que lo hacen con una frecuencia aproximada de 15% en el primero, sin sobrepasar el 60% en las mujeres multíparas.⁷⁶ Los anticuerpos que pueden aparecer están dirigidos tanto contra los antígenos de clase I como de clase II.⁷⁷

Estos anticuerpos antifetales no parecen provocar daños al feto, probablemente porque no tienen la capacidad de unirse al sincitiotrofoblasto, que no expresa antígenos del MHC. La protección así obtenida podría ser suficiente, pero no explica el papel de la placenta en la transferencia de inmunoglobulinas de la circulación materna a la fetal, que es un proceso por el cual el feto adquiere inmunidad frente a las infecciones durante el período perinatal. Los receptores Fc en la superficie del sincitiotrofoblasto se unen a las moléculas libres de inmunoglobulina G (IgG), que son así transportadas a la estroma vellositaria, para luego pasar a la circulación fetal. Este mecanismo de transporte sólo existe para las IgG, mientras que los anticuerpos de otras clases permanecen en la circulación materna. No obstante, los anticuerpos paternos contra el HLA fetal parecen ser filtrados en forma eficaz por la unión de los antígenos HLA con las células de la estroma vellositaria. La IgG que se encuentra agregada o formando complejos con antígenos es eliminada por macrófagos portadores del receptor Fc.⁷⁸ Esto ilustra el concepto de la placenta como una “esponja”, de la cual sólo escapan los anticuerpos IgG maternos dirigidos contra antígenos no representados en el tejido placentario, que luego ingresan en la circulación fetal.⁷⁹

Respuestas mediadas por células

Si la madre puede generar anticuerpos contra los antígenos HLA fetales, también podría esperarse el desarrollo de inmunidad mediada por células, ya que la sensibilización de las células B y T a los antígenos fetales ocurriría en forma simultánea. En sorprendente entonces que sólo se encuentren evidencias esporádicas acerca de la sensibilización de células T, evaluada por la detección de reacciones secundarias materno-paternas (fetales) mixtas, de tipo linfocitario, o bien por el hallazgo de células T citotóxicas específicas paternas (fetales).⁸⁰

Una búsqueda de células T citotóxicas contra blancos pater-

Cuadro 1.4 Respuestas inmunitarias maternas frente a las células fetales

	Respuesta de anticuerpos	Respuestas mediadas por células
Leucocitos fetales	+	+/-
Trofoblasto	+/- (?)	-

+, respuesta; -, ausencia de respuesta; (?), evidencia contradictoria.

nos y células de blancos no relacionados en el embarazo de término, dieron evidencia clara de existencia sólo en 2 de 20 mujeres embarazadas.⁸¹ En una nueva serie de experimentos no se observó sensibilización al HLA paterno en 25 gestaciones de primer trimestre normales;⁸² asimismo, incluso cuando se identificaron células T citotóxicas, éstas no parecieron afectar al feto, ya que los embarazos fueron normales. Esto implica que las células T citotóxicas no pueden atravesar la barrera placentaria para acceder al feto.

Regulación inmunitaria

De la información presentada en el apartado anterior se infiere con claridad que existe una paradoja en el embarazo, en el cual la producción de anticuerpos por la madre es aparentemente normal pero su capacidad de lanzar respuestas mediadas por células está debilitada (Cuadro 1.4). Este concepto se apoya en observaciones clínicas de que, aunque no hay un gran compromiso inmunitario, las embarazadas tienen una mayor susceptibilidad a enfermedades que suelen resolverse por medio de respuestas inmunitarias mediadas por células; así, ciertas infecciones virales, como la hepatitis, y las causadas por el virus del herpes simple y por el virus de Epstein-Barr, son más comunes durante la gestación.⁸³ Las enfermedades ocasionadas por patógenos intracelulares (p. ej., lepra, tuberculosis, paludismo, toxoplasmosis y coccidiodomicosis) parecen exacerbarse en ese período. Además, cerca del 75% de las mujeres afectadas por artritis reumatoide (originada por células T citotóxicas que actúan en las articulaciones) experimentan una remisión temporal de los síntomas durante el embarazo, mientras que el lupus eritematoso sistémico (causado por autoanticuerpos) tiende a agravarse en la misma situación.⁸⁴

Numerosos investigadores han intentado caracterizar la respuesta inmunitaria materna mediante la determinación de subgrupos de células inmunitarias y de sus funciones durante la gestación. En general, al comparar la función inmunitaria entre gestantes y no gestantes se observa que ésta es similar (Cuadro 1.5), sin que exista una tendencia clara hacia su potenciación o su supresión durante el embarazo.

Factores inmunorreguladores

Factores supresores placentarios

La placenta puede por sí misma liberar factores que suprimen la actividad de las células T y NK.⁸⁵ El sobrenadante de culti-

Cuadro 1.5 Alteraciones en la inmunidad celular materna durante el embarazo

Componente	Alteración en el embarazo	Referencia
Número de linfocitos B	Sin cambios	102, 103
Número de linfocitos T	Sin cambios	104, 105, 106
Función de los linfocitos T	Sin cambios	107
	Disminuida	108, 109
Función de los linfocitos NK	Disminuida	110, 111

vos de microvellosidades de sincitiotrofoblasto, de células placentarias y de líneas celulares de coriocarcinoma^{86,87} tiene un efecto supresor inespecífico sobre la respuesta mitógena y sobre los linfocitos estimulados alogénicamente, en la reacción mixta linfocitaria que acompaña a la actividad de las células T citotóxicas y las células NK.⁸⁸ La actividad supresora puede aparecer muy pronto en el embarazo, ya que se ha informado la producción de factores inhibidores por embriones preimplantatorios, tanto animales⁸⁹ como humanos, dentro de las 24 horas de la fecundación.⁹⁰

Factores supresores deciduales

Los factores supresores liberados a la sangre por la placenta pueden inhibir sistemáticamente las respuestas linfocitarias, pero existen otros mecanismos con posible participación local, que evitan el reconocimiento aloinmune del citotrofoblasto extravascular que invade la decidua. También se demostró que las respuestas mediadas por células pueden ser suprimidas in vitro por poblaciones celulares⁹¹ de decidua humana del primer trimestre. Las células deciduales secretan varias proteínas, que podrían mediar estas actividades supresoras, como el factor transformador de crecimiento beta, una citocina con fuerte efecto inhibidor sobre la proliferación de células B y T, al igual que de la actividad citotóxica de las células NK, que se ha localizado en los linfocitos granulados grandes de la decidua humana.⁹²

Citocinas y embarazo

Las citocinas son las candidatas más firmes para ser consideradas factores supresores derivados de la placenta y la decidua. Se ha propuesto que las modificaciones en la inmunidad materna durante el embarazo tienen lugar debido a un cambio en el equilibrio de las citocinas que favorece la producción de anticuerpos e inhibe las respuestas mediadas por células, cuya capacidad de provocar daño es superior.

Citocinas tipo 1 y tipo 2 en relación con la respuesta inmunitaria

Es evidente que la producción de anticuerpos y las respuestas mediadas por células están bajo el control de dos poblaciones diferentes de células Th CD4+.⁹³ Las células Th CD4+ de tipo 1 (Th1) controlan las respuestas mediadas por células, a través de la secreción de citocinas como IL-2, FNT- β (factor de necrosis tumoral beta) e IFN- γ , las cuales estimulan a las células T citotóxicas y a las células NK (respuesta Th1). Las célu-

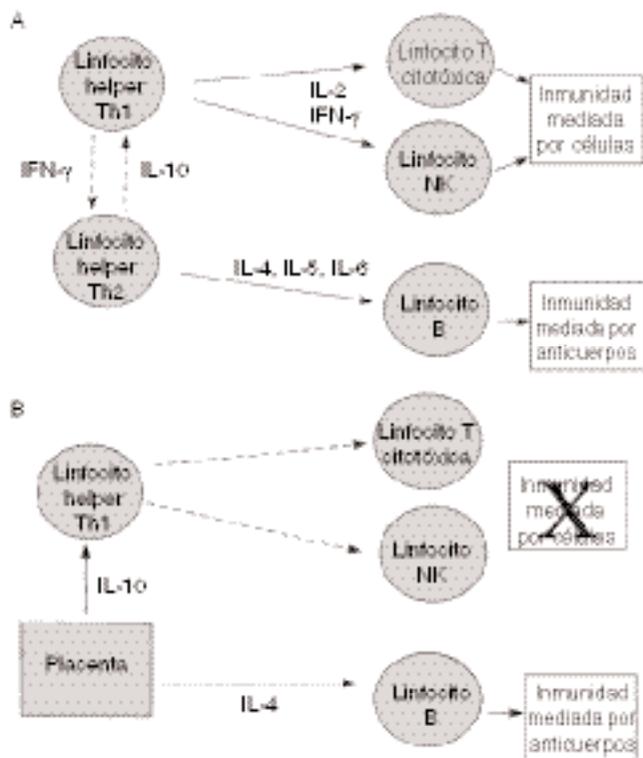


Figura 1.6 A) Citocinas Th1 y Th2 en las respuestas inmunitarias. B) Citocinas Th1 y Th2 en el embarazo. IFN: interferón; IL: interleucina; NK: naturalmente citotóxicas o *natural killer*; Th1: células T colaboradoras o *helper* de tipo 1; Th2: células T colaboradoras o *helper* de tipo 2.

las Th CD4+ de tipo 2 (Th2) son productoras de IL-4, que estimula la producción de anticuerpos IgE e IgG por parte de las células B (respuesta Th2) (Fig. 1.6A) Estos dos sistemas también interactúan, como ocurre cuando el IFN- γ producido por las células T1 inhibe el desarrollo de células B, inducido por las células Th2; mientras que las células Th2 producen a su vez IL-10, que inhibe la síntesis de citocinas por las células Th1 (Fig. 1.6B). Así, las citocinas Th1 y Th2 se inhiben mutuamente, pero en condiciones normales están en equilibrio, lo cual permite la coexistencia de ambas variantes de la respuesta inmunitaria. Sin embargo, una desviación en el patrón de producción de citocinas puede llevar al predominio de un tipo de respuesta sobre la otra.

Citocinas tipo 1 y tipo 2 en el embarazo

Se ha propuesto que en el embarazo existe una modificación de la respuesta inmunitaria, por la cual se pasa de una respuesta Th1 hacia un predominio de Th2.⁹⁴ Este cambio se atribuye

a la producción de citocinas Th2 por la placenta (Fig. 1.6B), ya que el exceso de IL-4 liberada por la placenta podría estimular las respuestas de anticuerpos maternos. Al mismo tiempo, la producción excesiva de IL-10 podría inhibir a las células Th1 y llevar a la supresión de la actividad de las células T citotóxicas y de las células NK, como se ha observado.

Las evidencias experimentales para esta hipótesis se circunscriben principalmente a los ratones. Numerosos grupos demostraron que la producción de citocinas Th2 por los tejidos de la interfaz maternofetal,^{95,96} al igual que la inyección de citocinas Th1 como FNT- α , IFN- γ e IL-2, en ratonas preñadas, puede aumentar las tasas de reabsorción fetal e inhibir el desarrollo in vitro y la implantación de los embriones de ratón.⁹⁷ Hasta ahora, las evidencias en seres humanos se limitan a estudios de localización que muestran la presencia de IL-4 en el sincitiotrofoblasto y el citotrofoblasto de las membranas fetales, y en los macrófagos deciduales,⁹⁸ mientras que la IL-10 es secretada por el citotrofoblasto positivo para HLA-G.⁹⁹ En cambio, en los ratones con genes inactivados para IL-10¹⁰⁰ y los doblemente inactivados para IL-10 e IL-4¹⁰¹ el embarazo es normal. Es probable entonces que la relación inmunitaria entre la madre y el feto sea mucho más compleja de lo que se creyó en un principio.

Circuito inmunitario

De lo explicado surge con claridad que, en los embarazos normales, el crecimiento fetal progresa en paralelo con el desarrollo de diversos mecanismos inmunitarios que funcionan en varios niveles, lo cual puede resumirse por medio de la construcción de un circuito inmune (Fig. 1.7A). La primera etapa en este circuito consiste en la exposición del sistema inmunitario materno a los leucocitos y el trofoblasto fetal. Esto podría llevar al reconocimiento inmunitario, con desarrollo de una respuesta mediada por células y producción de anticuerpos dirigidos contra los antígenos fetales, lo que podría conducir al rechazo del feto (placenta). Sin embargo, este circuito se interrumpe en varias partes (Fig. 1.7B). Primero, según las evidencias actuales, el sistema inmunitario materno no efectúa el reconocimiento del trofoblasto, ya que éste no logra expresar el HLA o bien expresa HLA-G. Segundo, aunque los leucocitos fetales podrían ser reconocidos por las células inmunitarias maternas, sólo se genera una respuesta de anticuerpos porque la producción placentaria de citocinas Th2 induce una regulación por inhibición de la inmunidad mediada por células. Por último, la producción de anticuerpos antipaternos no resulta perjudicial, dado que esos anticuerpos son filtrados por la placenta antes de que puedan alcanzar la circulación fetal. Como consecuencia, la combinación de todas estas adaptaciones inmunitarias del embarazo asegura un desarrollo fetal exitoso.

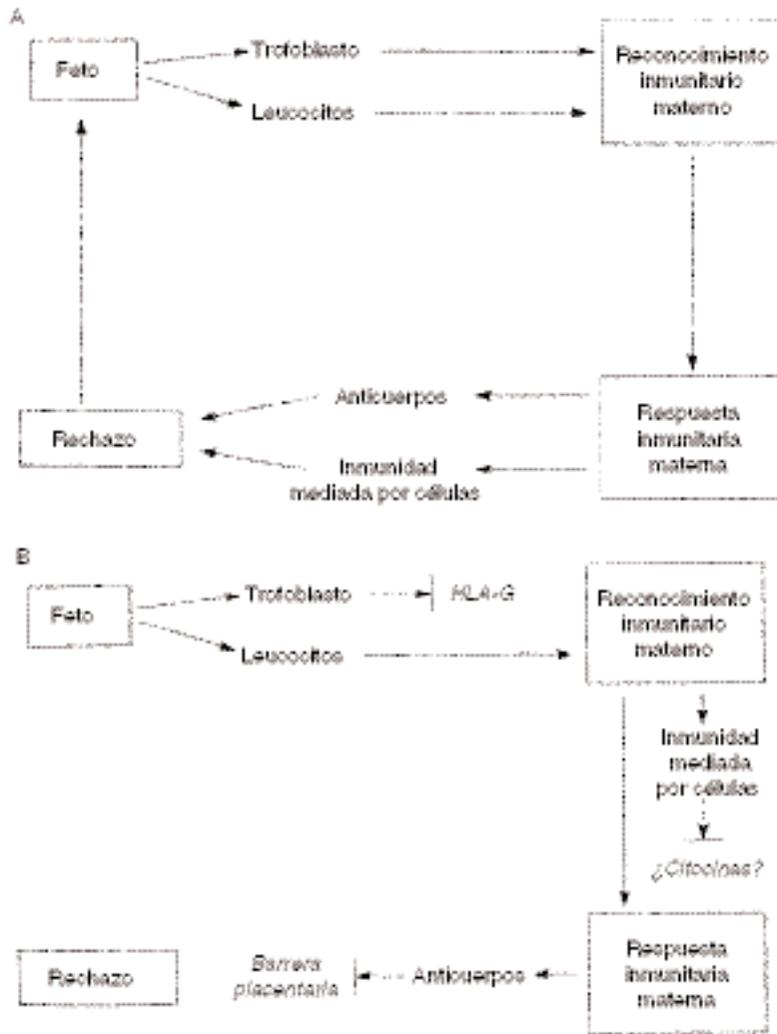


Figura 1.7 A) Respuestas inmunitarias en el embarazo que podrían llevar al rechazo del feto. B) Mecanismos inmunorreguladores en la gestación que evitan el rechazo del feto.

Conceptos clave

- 1 Durante la meiosis, el ovocito primario origina cuatro células hijas, cada una de las cuales recibe 22 autosomas y un cromosoma X. El espermatozoido primario también da origen a cuatro células hijas, cada una de las cuales recibe 22 autosomas y un cromosoma X o Y.
- 2 Antes de la interacción entre el óvulo y el espermatozoido, debe producirse la capacitación espermática.
- 3 La capacitación se caracteriza por la reacción acrosómica, la fusión entre las membranas del espermatozoido y el acrosoma y la exocitosis del contenido enzimático.
- 4 La zona pelúcida es una cubierta glucoproteica acelular que recubre al ovocito y que consiste en tres proteínas principales: ZP1, ZP2 y ZP3.
- 5 Tras la fusión de las membranas del óvulo y el espermatozoido, se desencadenan las reacciones cortical y de zona.
- 6 Después de la fusión entre el óvulo y el espermatozoido el ovocito reanuda la segunda división meiótica, con extrusión del segundo cuerpo polar.
- 7 La mórula entra en el útero 3 días después de la fecundación y flota dentro de la cavidad endometrial durante 2-3 días. El embrión comienza la implantación aproximadamente a los 6 días desde la fecundación.
- 8 La gonadotropina coriónica humana es una glucoproteína producida por el embrión en las etapas iniciales de su desarrollo y resulta esencial para estimular la producción de progesterona por el cuerpo lúteo.
- 9 Tres citocinas parecen estar involucradas en la implantación: el factor estimulante de colonias 1, el factor inhibidor de la leucemia y la interleucina 1.
- 10 La adhesión del blastocisto al epitelio endometrial está mediada por complejos ligando-receptor.

- 11 La proteína HLA-G es expresada sólo por el citotrofolasto extravelositario.
- 12 Los leucocitos y los eritrocitos fetales nucleados pueden entrar en la circulación materna al principio de la gestación.
- 13 La decidua del primer trimestre del embarazo está compuesta predominantemente por células inmunitarias. Cerca del 10% de las células estromales son linfocitos T, 20% son macrófagos y la principal población inmunitaria es la de linfocitos granulares grandes o células NK, que comprenden el 45% de las células deciduales.
- 14 HLA-G inhibe la proliferación de linfocitos CD4+ y disminuye la producción de IFN- γ y TNF- α por las células de la decidua.
- 15 HLA-G cumple un papel doble en la protección del trofolasto, tanto frente a las células T citotóxicas como a las NK.
- 16 En la placenta, la expresión de antígenos de clase I tiene lugar en el mesénquima de la vellosidad coriónica ya a las 2,5 semanas de gestación, mientras que las células positivas para antígenos de clase II se encuentran en la placenta a las 14 semanas de gestación.
- 17 Durante la gestación no existe una tendencia clara hacia la potenciación o la supresión de la función inmunitaria.
- 18 La placenta puede liberar factores que suprimen la actividad de las células T y de las NK.
- 19 Las células Th CD4+ de tipo 1 (Th1) controlan las respuestas mediadas por células por medio de la secreción de citocinas como IL-2, FNT- β e IFN- γ , que estimulan a las células T citotóxicas y a las células NK (respuesta Th1).
- 20 Las células Th CD4+ de tipo 2 (Th2) producen IL-4, la cual estimula la producción de anticuerpos IgE e IgG por las células B (respuesta Th2).

Referencias

- 1 Knobil E, Neill JD, eds. The physiology of reproduction, 2nd edn. New York: Raven Press, 1994.
- 2 Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z, eds. Reproductive endocrinology, surgery and technology. Philadelphia, PA: Lip-pincott-Raven, 1996.
- 3 Yoshinaga K, Hess DL, Hendrickx AG, et al. The development of the sexually indifferent gonad in the prosimian, Galago crassicaudatus crassicaudatus. Am } Anat 1988;181:89-105.
- 4 Austin CR. The capacitation of the mammalian sperm. Nature 1952;190:326.
- 5 Yanagimachi R. Mammalian fertilization. In: Knobil E, Neill JD, eds. The physiology of reproduction. New York: Raven Press; 1994:189-317.
- 6 Bedford JM. Significance of the need for sperm capacitation before fertilization in eutherian mammals. Biol Reprod 1983;28: 108-120.
- 7 Austin CR. Capacitation and the release of hyaluronidase from spermatozoa. / Reprod Fertil 1960;3:310-311.
- 8 Saling PM. Fertilization: mammalian gamete interactions. In: Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z, eds. Reproductive endocrinology, surgery and technology. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven; 1996:404-420.
- 9 Liang LF, Dean J. Oocyte development: molecular biology of the zona pellucida. Vitam Horm 1993;158:35-45.
- 10 Wassarman PM, Albertini DF. The mammalian ovum. In: Knobil E, Neill J, eds. The physiology of reproduction. New York: Raven Press; 1994:69-102.
- 11 Wassarman PM. Zona pellucida glycoproteins. Annu Rev Biochem 1988;57:415-442.
- 12 Wassarman PM. Gamete interactions during mammalian fertilization. Theriogenology 1994;41:31-44.
- 13 Foltz KR. Sperm-binding proteins. Int Rev Cytol 1995;163: 249-303.
- 14 Yanagimachi R. Sperm-egg fusion. In: Duzgunes N, Bronner F, eds. Current topics in membranes and transport. San Diego, CA: Academic Press; 1988:3-43.
- 15 Green DP. Mammalian fertilization as a biological machine: a working model for adhesion and fusion of sperm and oocyte. Hum Reprod 1993;8:91-96.
- 16 Miyazaki S, Shirakawa H, Nakada K, et al. Essential role of the inositol 1,4,5 triphosphate receptor/Ca2+ release channel in Ca2+ waves and oscillations at fertilization of mammalian eggs. Dev Biol 1993;158:62-78. .
- 17 Taylor CT, Lawrence YM, Kingsland CR, et al. Oscillations in intracellular free calcium induced by spermatozoa in human oocytes at fertilization. Hum Reprod 1993;8:2174-2179.
- 18 Dale B, Gualtieri R, Talevi R, et al. Intercellular communication in the early human embryo. Mol Reprod Dev 1991;29:22-28.
- 19 Lo CW. The role of gap junction membrane channels in development. J Bioenerg Biomembr 1996;28:379-385.
- 20 Larue L, Marni O, Hirchenhain J, et al. E-cadherin null mutant embryos fail to form a trophectoderm epithelium. Proc Natl Acad Sci USA 1994;91:188-195.
- 21 Perona RM, Wassarman PM. Mouse blastocysts hatch in vitro by using a trypsin-like proteinase associated with cells of mural trophectoderm. Dev Biol 1986;114:42-52.
- 22 Sathananthan H. Ultrastructure of preimplantation human embryos co-cultured with human ampullary cells. Hum Reprod 1990;5:309-318.
- 23 Minhas BS, Ripps BA, Zhu YP, et al. Platelet activating factor and conception. Am J Reprod Immunol 1996;35:267-271.
- 24 O'Neill C, Gidley-Baird AA, Pike IL, et al. Maternal blood platelet physiology and luteal phase endocrinology as a means of monitoring pre- and post-implantation embryo viability following in vitro fertilization. J In Vitro Embryo Transfer 1985;2: 87-93.
- 25 Spinks NR, O'Neill C. Embryo-derived platelet-activating factor is essential for establishment of pregnancy in the mouse. Lancet 1987;1:106-107.
- 26 Lenton EA. Gonadotrophins of the menstrual cycle and implantation. Serono Symp Pubi 1990;66:33-48.
- 27 Dokras A, Sargent IL, Gardner RL, et al. Human trophectoderm

- biopsy and secretion of chorionic gonadotrophin. *Hum Reprod* 1991;6:1453-1459.
- 28 Morton H, Rolfe B, Clunie GJA, et al. An early pregnancy factor detected in human serum by the rosette inhibition test. *Lancet* 1977;1:394-397.
 - 29 Bose R, Cheung H, Sabbadini E, et al. Purified human early pregnancy factor from preimplantation embryo possesses immunosuppressive factors. *Am J Obstet Gynecol* 1989;160:954-960.
 - 30 Cavanagh AC, Morton H. The purification of early-pregnancy factor to homogeneity from human platelets and identification as chaperonin 10. *Eur J Biochem* 1994;222:551-560.
 - 31 Straube W, Romer T, Zeeni L, et al. The early pregnancy factor (EPF) as an early marker of disorders in pregnancy. *Zentralbl Gynakol* 1995;117:32-34.
 - 32 Sheth KV, Roca GL, Al Sediary ST, et al. Prediction of successful embryo implantation by measuring interleukin-1 α and immunosuppressive factor(s) in preimplantation embryo culture fluid. *Fertil Steril* 1991;55:952-957.
 - 33 Bose R, Lacson AG. Embryo-associated immunosuppressor factor is produced at the maternal-fetal interface in human pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1995;33:373-380.
 - 34 Cocchiara R, Di Trapani G, Azzolina A, et al. Identification of a histamine-releasing factor secreted by human pre-implantation embryos grown in vitro. *J Reprod Immunol* 1988;13:41-52.
 - 35 Harvey MB, Leco KJ, Arcellana-Panlilio MY, et al. Roles of growth factors during peri-implantation development. *Hum Reprod* 1995;7:712-718.
 - 36 Tabibzadeh S, Babaknia A. The signals and molecular pathways involved in implantation, a symbiotic interaction between blastocyst and endometrium involving adhesion and tissue invasion. *Hum Reprod* 1995;10:1579-1602.
 - 37 Simon C. Potential molecular mechanisms for the contraceptive control of implantation. *Mol Hum Reprod* 1996;2(7):475-479.
 - 38 Thomas L, Douglas GW, Carr MC. The continual migration of syncytial trophoblasts from the fetal placenta into the maternal circulation. *Trans Assoc Am Physiol* 1959;72:140-148.
 - 39 Chua S, Wilkins T, Sargent I, et al. Trophoblast deportation in pre-eclamptic pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;98(10): 973-979.
 - 40 Mueller UW, Hawes CS, Wright AE, et al. Isolation of fetal trophoblast cells from peripheral blood of pregnant women. *Lancet* 1990;336(8709):197-200.
 - 41 Sargent IL, Johansen M, Chua S, et al. Clinical experience: isolating trophoblasts from maternal blood. *Ann NY Acad Sci* 1994;731:154-161.
 - 42 Bianchi DW, Zickwolf GK, Yih MC, et al. Erythroid-specific antibodies enhance detection of fetal nucleated erythrocytes in maternal blood. *Prenat Diagn* 1993;13(4):293-300.
 - 43 Zilliacus R, De la Chapelle A, Schroder J, et al. Transplacental passage of foetal blood cells. *Scand J Haematol* 1975;15(5): 333-338.
 - 44 Hamada H, Arinami T, Kubo T, et al. Fetal nucleated cells in maternal peripheral blood: frequency and relationship to gestational age. *Hum Genet* 1993;91(5):427-432.
 - 45 Bulmer JN, Sunderland CA. Bone-marrow origin of endometrial granulocytes in the early human placental bed. *J Reprod Immunol* 1983;5(6):383-387.
 - 46 Starkey PM, Sargent IL, Redman CW. Cell populations in human early pregnancy decidua: characterization and isolation of large granular lymphocytes by flow cytometry. *Immunology* 1988; 65(1):129-134.
 - 47 Giacomini P, Tosi S, Murgia C, et al. First-trimester human trophoblast is class II major histocompatibility complex mRNA+/antigen. *Hum Immunol* 1994;39(4):281-289.
 - 48 Sunderland CA, Naiem M, Mason DY, et al. The expression of major histocompatibility antigens by human chorionic villi. *J Reprod Immunol* 1981;3(6):323-331.
 - 49 Ellis SA, Sargent IL, Redman CW, et al. Evidence for a novel HLA antigen found on human extravillous trophoblast and a choriocarcinoma cell line. *Immunology* 1986;59(4):595-601.
 - 50 Kovats S, Main EK, Librach C, et al. A class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblasts. *Science* 1990;248(4952): 220-223.
 - 51 Ellis SA, Palmer MS, McMichael AJ. Human trophoblast and the choriocarcinoma cell line BeWo express a truncated HLA Class I molecule. *J Immunol* 1990;144(2):731-735.
 - 52 Geraghty DE, Koller BH, Orr HT. A human major histocompatibility complex class I gene that encodes a protein with a shortened cytoplasmic segment. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84 (24):9145-9149.
 - 53 Chumbley G, King A, Gardner L, et al. Generation of an antibody to HLA-G in transgenic mice and demonstration of the tissue reactivity of this antibody. *J Reprod Immunol* 1994;27 (3):173-186.
 - 54 Dohr G. HLA and TLX antigen expression on the human oocyte, zona pellucida and granulosa cells. *Hum Reprod* 1987;2(8): 657-664.
 - 55 Chiang MH, Steuerwald N, Lambert H, et al. Detection of human leukocyte antigen class I messenger ribonucleic acid transcripts in human spermatozoa via reverse transcription-polymerase chain reaction. *Fertil Steril* 1994;61(2):276-280.
 - 56 Roberts JM, Taylor CT, Melling GC, et al. Expression of the CD46 antigen, and absence of class I MHC antigen, on the human oocyte and preimplantation blastocyst. *Immunology* 1992;75(1):202-205.
 - 57 Jurisicova A, Casper RF, MacLusky NJ, et al. HLA-G expression during preimplantation human embryo development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93(1):161-165.
 - 58 Puppo F, Scudeletti M, Indiveri F, et al. Serum HLA class I antigens: markers and modulators of an immune response? *Immunol Today* 1995;16(3):124-127.
 - 59 Hausmann R, Zavazava N, Steinmann J, et al. Interaction of papain-digested HLA class I molecules with human alloreactive cytotoxic T lymphocytes (CTL). *Clin Exp Immunol* 1993;91(1): 183-188.
 - 60 Zavazava N, Kronke M. Soluble HLA class I molecules induce apoptosis in alloreactive cytotoxic T lymphocytes. *Nature Med* 1996;2(9):1005-1010.
 - 61 Kovats S, Librach C, Fisch P, et al. Expression and possible function of the HLA-G a chain in human cytotrophoblasts. In: Chaouat G, Mowbray J, eds. Cellular and molecular biology of the materno-fetal relationship. Paris: John Libbey; 1991:21-29.
 - 62 Ishitani A, Geraghty DE. Alternative splicing of HLA-G transcripts yields proteins with primary structures resembling both class I and class II antigens. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89(9):3947-3951.
 - 63 Sanders SK, Giblin PA, Kavathas P. Cell-cell adhesion mediated by CD 8 and human histocompatibility leukocyte antigen G, a nonclassical major histocompatibility complex class I molecule on cytotrophoblasts. *J Exp Med* 1991;174(3):737-740.
 - 64 Bainbridge DR, Ellis SA, Sargent IL. HLA-G suppresses proliferation of CD4(+) T-lymphocytes. *J Reprod Immunol* 2000;48 (1):17-26.
 - 65 Kanai T, Fujii T, Unno N, et al. Human leukocyte antigen-G-expressing cells differently modulate the release of cytokines from mononuclear cells present in the decidua versus peripheral blood. *Am J Reprod Immunol* 2001;45(2):94-99.
 - 66 Kapasi K, Albert SE, Yie S, et al. HLA-G has a concentration-dependent effect on the generation of an allo-CTL response. *Immunology* 2000;101(2):191-200.
 - 67 Harel-Bellan A, Quillet A, Marchiol C, et al. Natural killer susceptibility of human cells may be regulated by genes in the HLA

- region on chromosome 6. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83(15): 5688-5692.
- 68 Pazmany L, Mandelboim O, Vales-Gomez M, et al. Protection from natural killer cell-mediated lysis by HLA-G expression on target cells. *Science* 1996;274(5288):792-795.
- 69 Riteau B, Rouas-Freiss N, Menier C, et al. HLA-G2, -G3, and -G4 isoforms expressed as nonmature cell surface glycoproteins inhibit NK and antigen-specific CTL cytotoxicity. *J Immunol* 2001; 166(8):5018-5026.
- 70 Rieger L, Hofmeister V, Probe C, et al. Th1- and Th2-like cytokine production by first trimester decidual large granular lymphocytes is influenced by HLA-G and HLA-E. *Mol Hum Reprod* 2002;8(3):255-261.
- 71 Sutton L, Mason DY, Redman CW. HLA-DR positive cells in the human placenta. *Immunology* 1983;49(1):103-112.
- 72 Haynes BF, Scarsee RM, Lobach DF, et al. Phenotypic characterization and ontogeny of mesodermal-derived and endocrine epithelial components of the human thymic microenvironment. *J Exp Med* 1984;159(4):1149-1168.
- 73 Van der Werf AJM. Are lymphocytotoxic iso-antibodies produced by the early human trophoblast? *Lancet* 1971(1):95.
- 74 Nakajima H, Mano Y, Tokunaga E, et al. Influence of previous pregnancy on maternal response to foetal antigens. *Tissue Antigens* 1982;19(1):92-94.
- 75 Regan L, Braude PR. Is antipaternal cytotoxic antibody a valid marker in the management of recurrent abortion? *Lancet* 1987; 2(8570):1280.
- 76 Van Rood GG, Eernisse G, Van Leuween A. Leukocyte antibodies in sera from pregnant women. *Nature* 1958(181):1735-1736.
- 77 Borelli I, Amoroso A, Richiardi P, et al. Evaluation of different technical approaches for the research of human anti-la alloantiser. *Tissue Antigens* 1982;19(5):380-387.
- 78 Wood GW, Bjerrum K, Johnson B. Detection of IgG bound within human trophoblast. *J Immunol* 1982;129(4):1479-1484.
- 79 Tongio MM, Mayer S, Lebec A. Transfer of HL-A antibodies from the mother to the child. Complement of information. *Transplantation* 1975;20(2):163-166.
- 80 Sargent IL. Maternal and fetal immune responses during pregnancy. *Exp Clin Immunogenet* 1993;10(2):85-102.
- 81 Sargent IL, Arenas J, Redman CW. Maternal cell-mediated sensitisation to paternal HLA may occur, but is not a regular event in normal human pregnancy. *J Reprod Immunol* 1987;10(2): 111-120.
- 82 Sargent IL, Wilkins T, Redman CW. Maternal immune responses to the fetus in early pregnancy and recurrent miscarriage. *Lancet* 1988;2(8620):1099-104.
- 83 Larsen B, Galask RR. Host-parasite interactions during pregnancy. *Obstet Gynecol Surv* 1978;33(5):297-318.
- 84 Piccinni MP, Romagnani S. Regulation of fetal allograft survival by a hormone-controlled Th1- and Th2-type cytokines. *Immunol Res* 1996;15(2):141-150.
- 85 Menu E, Kaplan L, Andreu G, et al. Immunoactive products of human placenta. I. An immunoregulatory factor obtained from explant cultures of human placenta inhibits CTL generation and cytotoxic effector activity. *Cell Immunol* 1989;119(2):341-352.
- 86 Matsuzaki N, Okada T, Kameda T, et al. Trophoblast-derived immunoregulatory factor: demonstration of the biological function and the physicochemical characteristics of the factor derived from choriocarcinoma cell lines. *Am J Reprod Immunol* 1989; 19(4):121-127.
- 87 Arkwright PD, Rademacher TW, Boutignon F, et al. Suppression of allogeneic reactivity in vitro by the syncytiotrophoblast membrane glycocalyx of the human term placenta is carbohydrate dependent. *Glycobiology* 1994;4(1):39-47.
- 88 Degenne D, Khalfoun B, Bardos P. In vitro inhibitory effect of human syncytiotrophoblast plasma membranes on the cytolytic activities of CTL and NK cells. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1986;12(4):106-110.
- 89 Murray MK, Segerson EC, Hansen PJ, et al. Suppression of lymphocyte activation by a high-molecular-weight glycoprotein released from preimplantation ovine and porcine conceptuses. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1987;14(2):38-44.
- 90 Clark DA, Lee S, Fishell S, et al. Immunosuppressive activity in human in vitro fertilization (IVF) culture supernatants and prediction of the outcome of embryo transfer: a multicenter trial. *J In Vitro Fertil Embryo Transf* 1989;6(1):51-58.
- 91 Daya S, Clark DA, Devlin C, et al. Suppressor cells in human decidua. *Am J Obstet Gynecol* 1985;151(2):267-270.
- 92 Clark DA, Vince G, Flanders KC, et al. CD56+ lymphoid cells in human first trimester pregnancy decidua as a source of novel transforming growth factor-beta 2-related immunosuppressive factors. *Hum Reprod* 1994;9(12):2270-2277.
- 93 Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989;7:145-173.
- 94 Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, et al. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today* 1993;14(7): 353-356.
- 95 Lin H, Mosmann TR, Guilbert L, et al. Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. *J Immunol* 1993;151(9):4562-4573.
- 96 Delassus S, Coutinho GC, Saucier C, et al. Differential cytokine expression in maternal blood and placenta during murine gestation. *J Immunol* 1994;152(5):2411-2420.
- 97 Haimovici F, Hill JA, Anderson DJ. The effects of soluble products of activated lymphocytes and macrophages on blastocyst implantation events in vitro. *Biol Reprod* 1991;44(1):69-75.
- 98 de Moraes-Pinto MI, Vince GS, Flanagan BF, et al. Localization of IL-4 and IL-4-receptors in the human term placenta, decidua and amniochorionic membranes. *Immunology* 1997;90(1): 87-94.
- 99 Roth I, Corry DB, Locksley RM, et al. Human placental cytotrophoblasts produce the immunosuppressive cytokine interleukin 10. *J Exp Med* 1996;184(2):539-548.
- 100 Kuhn R, Lohler J, Rennick D, et al. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 1993;75(2):263-274.
- 101 Svensson L, Arvola M, Sallstrom MA, et al. The Th2 cytokines IL-4 and IL-10 are not crucial for the completion of allogeneic pregnancy in mice. *J Reprod Immunol* 2001;51(1):3-7.
- 102 Sridama V, Pacini F, Yang SL, et al. Decreased levels of helper T cells: a possible cause of immunodeficiency in pregnancy. *N Engl J Med* 1982;307(6):352-356.
- 103 Dodson MG, Kerman RH, Lange CF, et al. T and B cells in pregnancy. *Obstet Gynecol* 1977;49(3):299-302.
- 104 Siegel I, Gleicher N. Changes in peripheral mononuclear cells in pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 1981;1(3):154-155.
- 105 Moore MP, Carter NP, Redman CW. Lymphocyte subsets in normal and pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 1983;90(4):326-331.
- 106 Bardeguet AD, McNeerney R, Frieri M, et al. Cellular immunity in preeclampsia: alterations in T-lymphocyte subpopulations during early pregnancy. *Obstet Gynecol* 1991;77(6):859-862.
- 107 Gill TJ, 3rd, Repetti CF. Immunologic and genetic factors influencing reproduction. A review. *Am J Pathol* 1979;95(2): 465-570.
- 108 Gehrz RC, Christianson WR, Linner KM, et al. A longitudinal analysis of lymphocyte proliferative responses to mitogens and antigens during human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1981;140(6):665-670.

CAPÍTULO 1

- 109 Petrucco OM, Seamark RF, Holmes K, et al. Changes in lymphocyte function during pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1976;83(3):245-250.
- 110 Toder V, Nebel L, Gleicher N. Studies of natural killer cells in pregnancy. I. Analysis at the single cell level. *J Clin Lab Immunol* 1984;14(3):123-127.
- 111 Vaquer S, de la Hera A, Jorda J, et al. Diminished natural killer activity in pregnancy: modulation by interleukin 2 and interferon gamma. *Scand J Immunol* 1987;26(6):691-698.