



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**LAS CITOCINAS Y SU RELEVANCIA EN LA  
IMPLANTACION EMBRIONARIA EN TRES ESPECIES  
DE MAMIFEROS DE LABORATORIO (*Oryctolagus  
cuniculus*, *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*):  
ESTUDIO RECAPITULATIVO**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A :

**MIGUEL ANGEL BETANCOURT ALONSO**

ASESORES: DR. MARIO PEREZ MARTINEZ  
DR. FERNANDO IVAN FLORES PEREZ



MÉXICO, D. F.

2004



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres, y a mi hermano, gracias por su apoyo cariño y orientación.

A mis Amigos por los buenos momentos que hemos pasado en esta escuela y en muchos otros lugares.

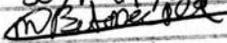
A mis Asesores Dr. Mario Pérez Martínez, Dr. Fernando Iván Flores Pérez

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por su interés en la constante preparación de sus egresados.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Miguel Angel  
Betancourt Alonso

FECHA: 30/Mar/04

FIRMA: 

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Mario Pérez Martínez, Dr. Fernando Iván Flores Pérez, MVZ EPA César Rosas; por sus consejos, la motivación tan importante que me dieron para la realización de este proyecto, por la confianza que han depositado en mi y por su tiempo ya que sin ellos este trabajo no hubiera podido realizarse.

Al Departamento de Morfología, en especial al Laboratorio de Biología Tisular de la Reproducción "Rosa E. Lavielle".

A mi jurado por su tiempo dedicado a la revisión de este trabajo:

MVZ. Eduardo Tena Betancourt

MVZ. Carlos Esquivel Lacroix

MVZ. Jorge Hernández Espinosa

MVZ. Héctor Villaseñor Gaona

MVZ. Mario Pérez Martínez

Se agradece el apoyo otorgado por la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM para la realización de esta investigación (proyecto PAPIIT ES212101)

## INDICE

I.	RESUMEN	1
II.	OBJETIVO	3
III.	INTRODUCCIÓN	4
IV.	PROCEDIMIENTO	10
	ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	12
V.	REGULACIÓN ENDOCRINA DE LA IMPLANTACIÓN Y MICROAMBIENTE UTERINO	13
VI.	ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DEL APARATO REPRODUCTOR FEMENINO	17
VII.	EL PROCESO DE SEGMENTACIÓN Y MIGRACIÓN DEL EMBRIÓN	22
VIII.	¿ QUE SON LAS CITOCINAS?	30
IX.	LA RED DE CITOCINAS ENDOMETRIALES	40
X.	LAS CITOCINAS Y SU INTERACCIÓN CON HORMONAS ESTEROIDES OVÁRICAS	52
XI.	EL USO DE CITOCINAS PARA EXPERIMENTACIÓN	58
XII.	PERSPECTIVAS EN EL USO DE LAS CITOCINAS CON FINES TERAPÉUTICOS COMO ESTRATEGIA EN LOS PROGRAMAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA	62
XIII.	DISCUSIÓN Y PERSPECTIVAS	65
XIV.	GLOSARIO	70
XV.	LITERATURA CITADA	72

## I. RESUMEN

Betancourt alonso Miguel Angel. Las citocinas y su relevancia en la implantación embrionaria en tres mamíferos de laboratorio (*Oryctolagus cuniculus*, *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*) (Bajo la asesoría de Mario Pérez Martínez y Fernando Iván Flores Pérez).

En la presente revisión se abordan diferentes aspectos relacionados con la participación funcional de las citocinas en la implantación embrionaria en 3 mamíferos de laboratorio; coneja, la rata y el ratón.

La producción de citocinas y factores del crecimiento en los diferentes tejidos uterinos durante la gestación temprana, da como resultado la existencia de una red compleja de comunicaciones en diferentes poblaciones celulares uterinas entre si y con el embrión, la expresión de estas moléculas esta sujeta a su vez a la regulación endocrina por parte de las hormonas esteroidales en donde los estrógenos y la progesterona regulan la expresión genética y la secreción de diversas citocinas y factores del crecimiento los cuales, modulan los efectos hormonales de una manera autócrina y/o parácrina durante el periodo previo y posterior a la implantación. Dentro de las citocinas más estudiadas tenemos al Factor de Necrosis tumoral (TNF), Factor estimulante de colonias macrófagos-granulocitos (GM-CSF) y el factor inhibidor de la leucemia (LIF) son indispensables para la implantación embrionaria en murinos, mientras que la Interleucina-6 es en los conejos.

Se espera que en el futuro algunas de ellas, solas o combinadas curen enfermedades como el SIDA ó el Cáncer.

## SUMMARY

In the present review are presented different aspects related with the participation of cytokine functions in the embryo implantation in three laboratory mammals; rabbit, rat and mouse.

Cytokine production and growth factors in the different uterine tissues in early gestation gives as a result a complex net communication in different cell uterine populations with the embryo, the expression of this molecules are regulated by the ovarian steroid hormones and they manipulate the genetic expression and the secretion of several cytokines and growth factors which ones control hormone effects with an autocrine and paracrine manner in the perimplantational period. One of the most studied cytokines are Factor Necrosis Tumor (TNF) Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF), Leukemia Inhibitor Factor (LIF) are indispensable to murine implantation embryos, while interleukin-6 is in rabbits. It 's hoped that in the future, alone or combined may show synergistic biological effects but further studies are required.

## II. OBJETIVO

Debido a que la coneja (*Oryctolagus cuniculus*), la rata (*Rattus norvegicus*) y el ratón (*Mus musculus*) son especies ampliamente utilizadas como modelos de experimentación biomédica, el estudio de las citocinas que intervienen durante el proceso de implantación del embrión es de gran relevancia para comprender su fisiología reproductiva tomando en cuenta que la información existente sobre este tópico hasta el momento es escasa y diversa. Por lo anterior el objetivo de este estudio recapitulativo es compilar, organizar, analizar y discutir la información de los últimos 10 años, relevante en la literatura nacional e internacional, sobre las citocinas de origen endometrial y su importancia en la implantación del blastocisto en la coneja, la rata y el ratón.

### III. INTRODUCCIÓN

En el inicio de la gestación se establece un “diálogo” molecular de tipo parácrino entre el tejido uterino y el embrión; esta comunicación se lleva a cabo mediante la secreción de diversas señales químicas que contribuyen al transporte sincrónico del producto hacia el útero y favorecen el desarrollo embrionario inicial (1).

La reproducción en los mamíferos representa la forma más compleja que existe en la interacción de genes, esta interacción requiere de un ambiente seguro proporcionado por la madre para que el producto sobreviva. Existen 2 formas de reconocimiento de la madre hacia el embrión; el primero es local, en el cual intervienen receptores de superficie celular que están involucrados en el reconocimiento y la adhesión del blastocisto; en la segunda forma interviene el sistema inmunológico en el que existe una comunicación o “diálogo” a nivel molecular entre la madre y el embrión para que pueda haber un reconocimiento de la gestación (2).

Esta coordinación involucra la producción regulada de factores del crecimiento, citocinas y hormonas producidas tanto por el embrión como por el tejido uterino materno que pueden tener un origen intrauterino y extrauterino. Los receptores complementarios para estos factores deben ser expresados de una manera apropiada por los tejidos para que pueda haber una señalización molecular adecuada (3, 4, 5 y 6).

Las citocinas son moléculas de naturaleza proteica que permiten la comunicación entre células; estas no son solo secretadas por el embrión, también por los linfocitos y los macrófagos del oviducto y las células endometriales. Se caracterizan por transportarse a un blanco específico y la acción combinada de estas con otras citocinas generalmente afectan más de un mecanismo (7).

El incremento en los niveles circulantes de progesterona ( $P_4$ ) que caracteriza a la gestación, modifica en forma notoria el funcionamiento del sistema inmunológico. Se ha propuesto que una de las funciones de la  $P_4$  ovárica durante la gestación es la de inhibir la respuesta inmunológica dirigida contra el feto (8).

Algunos de los cambios moleculares asociados con la receptividad al embrión son regulados por hormonas esteroidales mientras que otros cambios se dan por la presencia del blastocisto en la cavidad uterina (9).

Por medio de los receptores específicos, la mayoría de las células uterinas responden al estímulo de la progesterona y/o estrógenos; en el caso de los roedores, en el día 1 y 2 de la gestación, los estrógenos estimulan la proliferación celular del epitelio uterino, en el día 3 la progesterona que proviene del cuerpo lúteo induce la proliferación celular del estroma el cual se potencializa con los estrógenos. Por el contrario las células del epitelio detienen su proliferación por lo que el útero se encuentra receptivo al blastocisto (10).

La implantación del blastocisto es precedida por un incremento en la permeabilidad vascular en la pared uterina; esta respuesta edematosa es confinada a regiones locales del útero, precisamente donde el blastocisto se adhiere. En los animales de laboratorio se ha sugerido que este incremento en la permeabilidad vascular es importante en la interacción entre el útero y el embrión, por lo que la presencia de las prostaglandinas y de los estrógenos es fundamental para que el blastocisto pueda implantarse (11).

La respuesta tisular a este evento consiste en transformar a las células fibroblásticas del estroma uterino y se cree que dichas células transformadas constituyen una barrera permeable entre el blastocisto y la circulación materna (11). Posteriormente las células uterinas del epitelio mueren durante la invasión del trofoblasto y son fagocitadas por estas mismas células (11 y 12).

Se ha demostrado que en la mayoría de los mamíferos existe un tiempo restringido durante el ciclo uterino en el que puede ocurrir la implantación (13), por lo que una falla en el desarrollo de los eventos anteriores a la implantación durante esta "ventana a la receptividad" resulta en alteraciones en la gestación (13).

Las células del trofoblasto expresan receptores extracelulares que pueden interactuar con el endometrio (14 y 15).

El trofoblasto en particular sintetiza varias hormonas y citocinas que juegan un papel clave durante el periodo de implantación (16 y 17).

Las citocinas son proteínas solubles que transmiten señales de una célula emisora a otra receptora. Estas células generalmente están cercanas físicamente, aunque no necesariamente unidas. El efecto de las citocinas generalmente es local con excepción de algunas de ellas como la interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) que pueden inducir sus efectos a distancia cuando son producidas en grandes cantidades por células no linfoides (18,19 y 20).

Una de las citocinas más estudiadas en el contexto de la implantación embrionaria es el TNF $\alpha$ . Se ha informado que en la rata y el ratón la síntesis del TNF $\alpha$  en el útero se lleva a cabo al momento de la implantación, y los receptores a esta molécula han sido detectados en etapa de blastocisto, lo que sugiere una fuerte influencia del TNF $\alpha$  sobre la implantación embrionaria (21, 22, 23 y 24).

Otra de las citocinas relevantes en el proceso de implantación embrionaria es el Factor Estimulante de Colonias macrófago-granulocitos (GM-CSF). Debido a que los embriones murinos expresan receptores hacia esta citocina, y que también ha sido detectado en la placenta, los leucocitos, y las células endoteliales, se considera como otra citocina de gran relevancia en la implantación (25). Asimismo, se ha mencionado que la interleucina 6 (IL-6) también interviene en la

implantación embrionaria aunque hasta el momento no se conoce como actúa específicamente (26, 27 y 28).

En el conejo se ha estudiado el papel de los factores de crecimiento sobre el blastocisto. El factor de crecimiento insulínico (IGF-1 e IGF-2), y el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-2), se han encontrado en secreciones del endometrio (29). El FGF-2 existe en abundancia en el día 7 de la gestación que es cuando ocurre la implantación. El IGF-1 participa en la expansión del blastocisto, mientras que IGF-2 no tiene efecto alguno sobre este (29 y 30). Otros factores del crecimiento estudiados ha sido el factor de crecimiento epidermal (EGF); en el que se ha visto que juega un papel muy importante el sistema "ErbB/EGF" (receptor de la familia del factor de crecimiento epidermal / factor de crecimiento epidermal) durante el periodo de la implantación embrionaria (31).

Las citocinas son moléculas que funcionan como reguladores importantes de la esteroidogénesis y de la gametogénesis. La evidencia de esta interacción inmuno-endócrina ha sido ampliamente estudiada en el ovario debido a que su anatomía y vascularización permite la migración de leucocitos dentro y fuera del órgano (32).

Las hormonas esteroides gonadales influyen potencialmente sobre la función de las citocinas a tres niveles: pueden alterarlos a nivel transcripcional o postranscripcional, modulando la expresión del receptor de la citocina, o alterando el efecto de red de la citocina en las células blanco (33).

El estudio de la función de las citocinas durante la gestación temprana en los mamíferos, ofrece un prolífico campo de investigación en la actualidad. Estas proteínas de bajo peso molecular participan en el mantenimiento del cuerpo lúteo, en la adhesión fetal, y en la diferenciación fetal y placentaria (6).

Las técnicas de reproducción asistida que se utilizan en la actualidad, como la fertilización *in vitro* y las técnicas de cultivos celulares que se han efectuado en los últimos 20 años han tenido un éxito limitado (34). En este sentido el uso y manipulación de las citocinas a nivel local parece ser una estrategia importante en algunos casos de dificultades reproductivas (35).

El estudio de la biología de la implantación ha sido más ampliamente abordado en el humano y en el ratón; sin embargo la información disponible sobre este tópico en el conejo y en la rata es reciente gracias al avance impetuoso de la biología celular y molecular, por lo que en la actualidad estas especies ofrecen un campo muy amplio de interés en el estudio de las citocinas ya que estos modelos animales de estudio pueden ser considerados como una fuente de información importante para comprender los casos de infertilidad en especies de interés zootécnico y así poder conocer profundamente los eventos moleculares que intervienen en la fijación del blastocisto al epitelio luminal uterino (5 y 6).

#### IV. PROCEDIMIENTO

La revisión de la literatura más reciente se llevó a cabo utilizando la base de datos denominada "Pubmed", acceso a revistas electrónicas del Instituto de Biotecnología de la UNAM que se encuentran en Internet y en el Banco de Información de la Biblioteca de la FMVZ.

Estas bases de datos cuentan con revistas científicas de circulación internacional. La selección de la información se llevó a cabo revisando, analizando y clasificando cada uno de los artículos obtenidos, el trabajo final fue dividido en capítulos, en los cuales dentro de cada capítulo se utilizaron cuadros y diagramas.

Una vez seleccionados se discutieron. Es necesario destacar que la revisión comprendió los artículos existentes en el periodo comprendido entre 1993 y 2003; asimismo, se utilizaron palabras claves específicas para hacer la revisión.

Además, en la biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, se llevó a cabo una revisión de las tesis de licenciatura y de posgrado que tengan alguna relación directa con el tema, para ello se utilizó el sistema computarizado propio de la biblioteca. Esta revisión se efectuó con énfasis en las tesis presentadas los últimos cinco años.

A continuación se mencionan algunas revistas que fueron consultadas para su análisis en el presente estudio: J. Immunol., Endoc., Rev. Acta Obstet. Gynecol.

Scand, Theriogenology., Am. J. Vet. Res., Infection and immunity, Vet. Res., Biol. Reprod., Endocrinology., Laboratory Investigation, J. Anim. Sci., Cell Tissue Res., Anim. Reprod. Sci., Placenta., J. Reprod. Immunol., Developmental Biology., Mol Hum Reprod., Cell Tissue Res.

# ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

## V. REGULACIÓN ENDOCRINA DE LA IMPLANTACIÓN Y MICROAMBIENTE UTERINO

Las hormonas ováricas de tipo esteroidal tienen un papel fundamental durante la implantación. La progesterona, es la hormona de la gestación, ya que es secretada por el cuerpo lúteo y produce cambios durante el estado de gestación, como: estimular la hipertrofia de las glándulas endometriales; estimular el crecimiento alveolar de la glándula mamaria; favorecer la actividad secretoria de el oviducto y de las glándulas endometriales; disminuir las contracciones uterinas y regular la secreción de gonadotropinas, entre otras funciones (36).

La progesterona es un progestágeno natural secretado por las células lúteas del cuerpo amarillo, la placenta y las glándulas suprarrenales; esta es transportada en la sangre por una globulina de unión al igual que los estrógenos. La secreción de progesterona es estimulada por la Hormona Luteinizante (LH), principalmente (37).

Desde el punto de vista fisiológico se considera que la progesterona es una hormona que tiene una función antagonista a los estrógenos; además la progesterona reduce la acción de los estrógenos de inducir el crecimiento del epitelio uterino, lo que resulta en una disminución en el número de receptores hacia los estrógenos; dichas reducciones en el número de receptores han sido correlacionadas con una reducción de la sensibilidad del útero hacia el estradiol (12).

En el ratón adulto, los estrógenos estimulan la proliferación de células del epitelio uterino; este proceso en el estroma requiere tanto de progesterona como de estrógenos. En el día 1 y 2 de la gestación, los estrógenos estimulan la proliferación de las células epiteliales. En el día 3; la progesterona que es secretada por un cuerpo lúteo induce la proliferación de las células del estroma, las que son potencializadas por la preimplantación. En el día 4, las células epiteliales detienen su crecimiento y se inicia la diferenciación de estas (38).

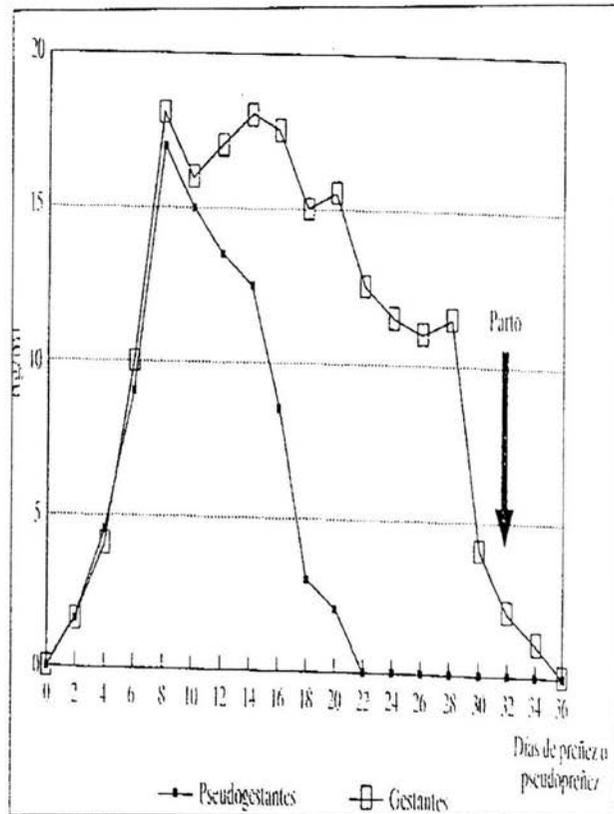
Se han hecho estudios por describir el efecto de un inhibidor de los receptores de progesterona en el citosol de la placenta de la rata. Este inhibidor es una macromolécula que reduce la afinidad de los receptores de progesterona, y su actividad inhibitoria en el citosol del trofoblasto es mayor en los días 9 y 12 de gestación y poco a poco va declinando (12 y 36).

Se ha demostrado que la concentración plasmática de progesterona a conejas pseudogestantes decrece rápidamente (Figura 1) (30).

En algunas especies el blastocisto induce una serie de cambios en el endometrio, que en conjunto se conocen como reacción decidual; esta se basa en el aumento de la permeabilidad de los capilares uterinos con extravasación de líquido y macromoléculas, las células adquieren gran tamaño por la acumulación de glucógeno y lípidos, y posteriormente proliferan. Cuando el embrión se implanta establece una posición fija y establece contacto físico con el órgano materno, este es uno de los procesos más críticos durante la gestación; debido a que se puede

dar solo cuando hay una sincronización entre el embrión y el endometrio. En los roedores la anidación es de tipo hemocorial; por lo que hay un contacto íntimo entre el embrión y la sangre materna; este se realiza entre las células trofoblásticas y la porción del epitelio endometrial próximo a los capilares para que se produzca una interdigitación íntima entre ambos tipos celulares (39).

El crecimiento y la función del útero es dependiente de la regulación de la proliferación y diferenciación de sus componentes celulares. Los estrógenos se asocian generalmente con la proliferación celular en el útero, mientras que la progesterona promueve la diferenciación celular; estos eventos son mediados a su vez por factores del crecimiento ya que la progesterona regula la expresión de estos factores así como sus receptores; algunos de estos factores son el factor de crecimiento epidermal dependiente de heparina (HB-EGF), factor de crecimiento similar a la insulina-1 (IGF-1), factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) este último en el caso de la rata se ha observado que puede ser regulado tanto por los estrógenos como por la progesterona (5, 6 y 8).



F<sub>3</sub> 1. CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE PROGESTERONA EN CONEJAS GESTANTES O PSEUDOGESTANTES. (Tomado de Alvarño, Control de la Reproducción en el conejo. 1993).

## VI. HISTOLOGÍA GENERAL DEL APARATO REPRODUCTOR FEMENINO

En términos generales el aparato reproductor femenino de los mamíferos domésticos está compuesto por: ovarios; tubas uterinas; útero; cérvix; vagina; vestíbulo y vulva.

El tamaño de los ovarios y su composición varía de acuerdo al estado fisiológico de la hembra. De esta manera, en las conejas en estróo hay una menor cantidad de tejido intersticial formada por células pequeñas; en las hembras gestantes aumenta el volumen de la glándula intersticial y sus células son más grandes (40,41, 42 y 43).

Las tubas uterinas son estructuras bilaterales especializadas en transportar a los gametos femeninos y masculinos; estas se dividen anatómicamente en infundíbulo, ampulla e istmo y la fecundación ocurre dentro de ellas. Histológicamente se componen de un epitelio de tipo cilíndrico simple o pseudoestratificado con cilios móviles en la mayoría de las células. Los cilios ayudan al movimiento del óvulo a lo largo de la túnica mucosa plegada; la ciliogénesis se debe a una respuesta de las altas concentraciones de estrógenos. La lámina propia submucosa de las tubas está formada de tejido conjuntivo laxo en donde existe una cantidad abundante de células plasmáticas, mastocitos y eosinófilos; la túnica mucosa del ampulla presenta muchos pliegues. La túnica serosa es típica y posee una cantidad abundante de vasos sanguíneos que

forman una capa vascular, estos forman los plexos vasculares subepiteliales y proliferan durante la gestación (44 y 45).

Desde el punto de vista fisiológico, el infundíbulo capta los ovocitos expulsados del ovario, este contiene unas proyecciones llamadas fimbrias, para que en el momento de la ovulación los vasos sanguíneos de las fimbrias se encuentren repletos de sangre y estas fimbrias que se encuentran turgentes puedan moverse por encima de la superficie del ovario como resultado de las contracciones rítmicas de las células musculares lisas; al mismo tiempo, los cilios transportan al ovocito hacia el ampulla. En el ampulla se lleva a cabo la fecundación; esta impulsa al huevo mediante la actividad ciliar, aunque en algunas especies también interviene la contractibilidad muscular. La dirección de las contracciones del istmo varía de acuerdo con la fase del ciclo estral; por ejemplo en la fase folicular, las contracciones antiperistálticas tienen una tendencia a mover los contenidos luminales hacia el istmo, mientras que en la fase lutea las contracciones segmentales dirigen al huevo hacia el útero (46).

El útero es el sitio en el que ocurre la implantación del embrión; este órgano presenta 3 capas histológicas: a) el endometrio es la túnica mucosa y su lámina epitelial está compuesta de un epitelio cilíndrico simple. Las glándulas uterinas son simples o tubulares ramificadas. Los productos secretados por el epitelio glandular y de revestimiento, incluyen moco, lípidos, glucógeno y proteínas (47).

Las glándulas uterinas se extienden hacia la lámina propia submucosa, esta lámina es de tejido conjuntivo laxo hiperplásico en su superficie con abundantes neutrófilos y mononucleares; b) el miometrio es la túnica muscular que consta de una gruesa capa interna que es en su gran parte circular, y una capa longitudinal externa que va aumentando en número y tamaño durante la gestación, y c) el perimetrio es la túnica serosa que consta de tejido conectivo laxo recubierto de mesotelio peritoneal. Las modificaciones cíclicas del endometrio durante el ciclo estral están reguladas por el eje hipotálamo-hipófisis-gonada que esta a su vez se encuentra modulada por factores ambientales y factores neuroendocrinos internos. El proestro que es el periodo de maduración del folículo y aumenta la proliferación endometrial, los niveles de progesterona decrecen para permitir la liberación de la FSH. El aumento de los niveles de estrógenos conducen al estro que es el periodo de receptividad sexual en el cual ocurre la ovulación en la mayoría de las especies. La ovulación es precedida por una elevación de la LH, al final de esta etapa los niveles de estrógenos descienden (46 y 47).

El metaestro es un periodo en el que ocurre el desarrollo del cuerpo lúteo y se inicia la secreción de progesterona. El diestro es la fase en la que el cuerpo lúteo esta activo, aquí tiene una influencia muy grande la progesterona sobre las estructuras sexuales accesorias; en esta fase la hiperplasia glandular esta en su máxima expresión y secreción; aunque al final de esta etapa inicia la involución del cuerpo lúteo así como la involución endometrial, incluyendo la regresión glandular (46).

El cuello uterino de la coneja tiene pliegues ciegos que sirven como reservorio ya que los espermatozoides quedan alojados temporalmente en este sitio. El cuello uterino es una válvula que su función es cerrar la luz uterina desde la vagina, tiene una pared muscular gruesa rica en fibras elásticas. El epitelio de esta estructura en la mayoría de las especies es cilíndrico con muchas células productoras de moco, que sirve para formar el tapón cervical durante la gestación. La túnica serosa del cuello uterino se forma de tejido conjuntivo laxo (44 y 48).

La vagina es una estructura tubo muscular que se extiende desde el cuello hasta el vestíbulo. La gran cantidad de moco vaginal que aparece en el estro se origina principalmente del cuello. En la coneja la vagina presenta cambios cíclicos que son utilizados como indicadores de actividad reproductiva controlada por las hormonas sexuales circulantes. A medida que aumentan las concentraciones de estrógenos se hace más grueso el epitelio escamoso estratificado de la vagina (45).

Los dos tercios anteriores de la vagina presentan un epitelio de tipo columnar simple, similar al del cervix, mientras que el tercio posterior de la vagina está limitado por una mucosa con epitelio estratificado. Estudios de microscopia electrónica han demostrado que este epitelio columnar está constituido por 2 tipos celulares: células ciliadas que son más abundantes hacia el ectocervix y van disminuyendo progresivamente hasta desaparecer hacia la unión escamoso-columnar, mientras que el segundo tipo, son células con microvellosidades, las cuales aumentan en la misma dirección (47).

El líquido vaginal está compuesto por una mezcla de secreciones de las glándulas sebáceas y sudoríparas, líquidos del oviducto y del endometrio y células exfoliadas del epitelio vaginal, junto con moco cervical y plasma seminal, constituyendo una compleja interacción que constituye un sistema de amortiguación para proteger a los espermatozoides mientras son transportados por los micelios del moco cervical (48).

En el caso de la rata, se han realizado estudios sobre los cambios cíclicos ocurridos en el epitelio de la mucosa vaginal, que consisten principalmente en la presencia de queratina o de mucinas, así como de microvellosidades en la superficie de las células dependientes de estrógenos o de progesterona (36).

## VII. EL PROCESO DE SEGMENTACIÓN Y MIGRACIÓN DEL EMBRIÓN

La segmentación es la etapa del desarrollo embrionario que sigue de la fecundación; que se caracteriza por presentar una serie de divisiones mitóticas; esta fase concluye cuando el producto alcanza la etapa de blastocisto (11).

La fase de segmentación es un proceso de integración y reorganización de las células que se van a denominar blastómeros y van aumentando en número. Durante esta fase se forma un conglomerado celular denominado mórula (11).

Después de la formación de esta estructura es posible detectar 2 grupos de blastómeros: uno dispuesto hacia la parte central conocido como embrioblasto y otro dispuesto alrededor llamado trofoblasto; por lo que el embrioblasto dará origen a los tejidos que forman al embrión y el trofoblasto dará origen a los tejidos que formaran la porción central de la placenta (50). Una vez que la mórula es diferenciada alcanza el lumen uterino que se encuentra lleno de un líquido uterino que se conoce como embriotrofo o "leche uterina"; este líquido empieza a penetrar a la mórula para formar pequeñas lagunas o espacios entre los blastómeros que van a formar una cavidad en la que es posible distinguir el embrioblasto del trofoblasto; cuando esto ocurre el producto adquiere un aspecto de vesícula que recibe el nombre de blastocisto (49 y 50).

Después de que ocurren estos eventos las células que forman el embrioblasto empiezan a diferenciarse y multiplicarse dando lugar a las hojas blastodérmicas; a

este proceso se le conoce como gastrulación en el cual se van a originar todos los órganos y tejidos del embrión. Este proceso se inicia cuando el embrioblasto pasa de ser un conglomerado celular a un disco formado por dos capas de células; una que se orienta al exterior llamada ectodermo y la otra más interna conocida como endodermo; dichas hojas se conocen con el nombre de hojas blastodérmicas y se dice que el embrión se encuentra en una etapa de disco bilaminar (50).

Este disco empieza a alargarse debido a la diferenciación y multiplicación de células del ectodermo las cuales más adelante van a formar el surco primitivo. En su extremo contrario va a presentar un abultamiento llamado nodo primitivo. Este nuevo grupo de células de origen ectodérmico constituye la tercera hoja blastodérmica denominada mesodermo; cuando esto ocurre, se dice que el embrión ha entrado en la etapa de disco trilaminar (11).

La segmentación involucra a todo el embrión, y la migración celular debe estar muy coordinada con otros movimientos que ocurren de manera simultánea; aunque los patrones de la segmentación varían enormemente entre las especies animales, pueden tener algunos mecanismos en común relacionados como los que se mencionaron con anterioridad.

En investigaciones recientes se ha obtenido más información sobre los mecanismos que intervienen en la segmentación del embrión, en los mamíferos este mecanismo funciona de la siguiente manera; la primera segregación de células se encuentra involucrada en la formación del hipoblasto esta células

separadas de las demás células dan origen al saco del endodermo. Los restos de las células que se encuentran sobre el hipoblasto ahora formarán el epiblasto. Las células del epiblasto se van separando para formar el amnios; una vez que esto ocurre y la línea del amnios está completa, se empieza a llenar con una secreción llamada líquido amniótico, el cual sirve como amortiguador para que el embrión se pueda desarrollar de manera favorable y también prevenir su desecación (11 y 50).

Las células del mesodermo y el endodermo migran a través del saco primitivo, al momento que entran a este, las células del epiblasto dejan de expresar la E-cadherina que mantiene a las células juntas, y empiezan a migrar como células individuales, lo cual origina a la notocorda; en el ratón se cree que estas células se encuentran integradas dentro del endodermo. Estas células pueden ser vistas como una pequeña banda de células ciliadas extendidas rostralmente del nodo de Hensen (49).

Mientras que las células del epiblasto siguen haciendo su función, las células que se encuentran fuera del embrión empiezan a actuar sobre los tejidos que van a hacer que el embrión sobreviva en el útero materno. Aunque las células del trofoblasto inicial del ratón aparecen de forma normal, estas dan crecimiento a una población de células en las cuales empieza a ocurrir una división nuclear en ausencia de citocinesis. La etapa inicial de las células del trofoblasto constituyen una estructura conocida como citotrofoblasto, mientras que las células multinucleadas forman el sincitiotrofoblasto (51).

El citotrofoblasto se adhiere al endometrio por medio de una comunicación que existe a nivel molecular entre la madre y el embrión. El sincitiotrofoblasto se piensa que ayuda a la progresión del embrión dentro del útero, durante la segmentación del embrión podemos observar que existen una serie de movimientos coordinados de las diferentes células que intervienen en este proceso (50).

En las etapas tempranas del desarrollo del blastocisto en el ratón, el trofoectodermo representa la mayor parte del futuro *conceptus* (70-80% de las células). La fijación del blastocisto a la pared del endometrio se inicia cuando el trofoblasto empieza a invadir a este. La implantación del blastocisto se lleva a cabo de manera profunda en las criptas endometriales, en esta etapa temprana, el saco vitelino empieza a formar una porción bastante dominante sobre los tejidos del embrión; mas tarde este saco vitelino se invierte totalmente, así que su epitelio hace presión contra la mucosa endometrial en el domo de la cavidad. Recientemente se ha visto que el fibrinógeno es esencial para el éxito de la fijación del blastocisto y para el mantenimiento de la placentación; los ratones deficientes de fibrinógeno simplemente abortan el producto (52).

En esta etapa el disco placentario yace sobre el lado opuesto del útero (mesometrio); aunque no hay saco alantoico en los ratones, algunos de los tejidos iniciales del alantoico proveen para la formación del cordón umbilical. El proceso de fusión aparentemente es altamente regulado a través de las atracciones de la adhesión de la molécula VCAM-1 en el alantoides y la molécula 4-integrina en el

corion. Después de esta fusión la barrera que quedaba en estas dos membranas se rompe (51).

En el caso del ratón, la primera señal de que se ha llevado a cabo la implantación es un aumento en la permeabilidad vascular del útero en el sitio de aposición del trofoblasto; esto se debe a la reacción que existe entre el blastocisto y el epitelio uterino. Este evento es precedido por un edema generalizado a nivel del útero; después de esta reacción de contacto entre el blastocisto y el epitelio del útero, las mismas células epiteliales empiezan a presentar apoptosis, mientras que las células del estroma empiezan a presentar una extensiva proliferación y diferenciación (decidualización) (Cuadro 1) (Figura 2) (10).

En el caso de la rata la implantación inicial es antimesometrial y el desarrollo temprano es similar al del ratón como ya se mencionó anteriormente. El óvulo fertilizado llega al útero en forma de blastocisto en el día 3-4, este es ayudado por contracciones uterinas; alrededor del día 8 un cono preplacentario que se origina de la proliferación del trofoblasto se desarrolla del lado opuesto donde se dió la implantación en su periferia; las células gigantes del trofoblasto empiezan a participar en la decidualización y presentan una actividad fagocítica. Como en el ratón, un cono ectoplacentario se desarrolla en un espacio endometrial y se desarrolla una zona de células gigantes en la periférica del trofoblasto.

Esto es seguido por una involución de los vasos alantoicos y células que forman el laberinto del disco placentario. La zona de células gigantes es sustituida con

celulas de decidualización y desplazada por el laberinto mesometrial (Cuadro 1) (Figura 2) (53).

En el caso de los conejos la implantación se da alrededor del día 7-8 post-coito; el embrión ingresa al útero después de 72 a 75 horas post-coito, la formación del blastocelo ocurre 72-96 horas post-coito y a partir del día 4 al día 7 el blastocisto expande su diámetro (36). En esta especie se puede observar que la adhesión del blastocisto a los ápices de las células epiteliales en las que el trofoblasto va a incluir al sincitiotrofoblasto, primero adhiriéndose a la parte apical de las células epiteliales y después se fusiona con estas (Cuadro 1) (Figura 2) (10).

Para que todos estos eventos tengan éxito es necesario una comunicación a nivel molecular en la cual están involucradas factores del crecimiento, citocinas, y hormonas producidas tanto por el embrión o por la madre; inclusive por tejidos extrauterinos; también los componentes de la superficie celular deben ser totalmente disponible para poder llevar a cabo estos mecanismos a nivel celular. Los factores del crecimiento como el factor de crecimiento transformante  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), factor de crecimiento epidermal dependiente de heparina (HB-EGF), amphiregulina (Ar) son solo algunos de los factores del crecimiento que ayudan todos estos procesos de segmentación y gastrulación (10). En la ausencia de un embrión, el útero experimentara una serie de cambios predecibles lo que lleva a las células a un proceso de apoptosis (10).

Cuadro 1. CRONOLOGÍA BÁSICA DE LOS EVENTOS DE SEGMENTACIÓN E IMPLANTACIÓN EN 3 ESPECIES

Especie	Morula	Blastocisto	Entrada al útero	Implantación
RATA	4º día*	4º día+	2º-3º día	5º día+
RATONA	4º día+	5º día	3 ½ día	5º día+
CONEJA	3º día*	3º día+	3º día	7º día*

\*mañana del día señalado  
+ tarde del día señalado

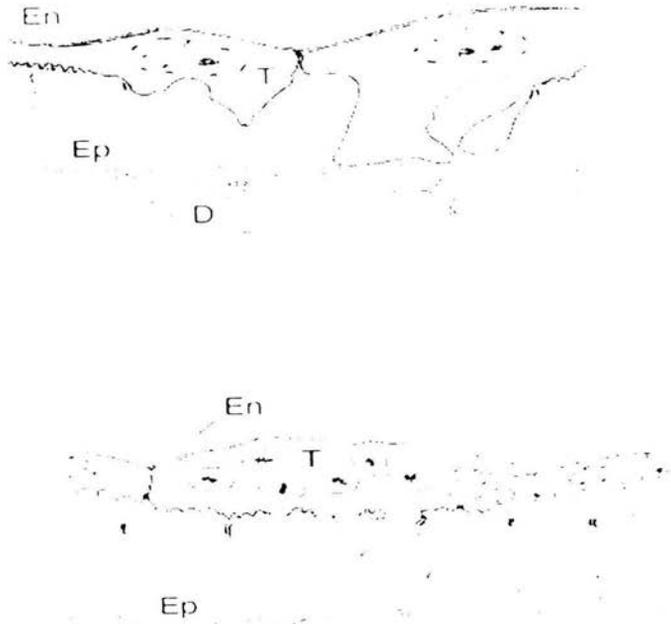


Fig 2. ESTRATEGIAS DE IMPLANTACIÓN.

ROEDORES (A). La penetración en el epitelio uterino es acompañada por las células del trofoblasto induciendo apoptosis sobre este.

CONEJO (B). El trofoblasto se fusiona con el epitelio uterino.

(En) Endodermo., (T) Trofoblasto., (Ep) Epitelio uterino., (D) Células deciduales.

Modificado de Carson, (10)

## VIII. ¿QUÉ SON LAS CITOCINAS?

En la respuesta inmunológica están involucradas células linfoides, células inflamatorias y células hematopoyéticas. Hasta el momento se sabe que un gran número de funciones que cumplen estas células están mediadas por un grupo de proteínas conocidas como citocinas, las cuales tienen un papel importante en la comunicación parácrina. Las citocinas son proteínas o glicoproteínas de bajo peso molecular, las cuales regulan el desarrollo de la respuesta inmune y algunas otras tienen efecto sobre ellas mismas. Las citocinas son el mensajero del sistema inmune; y a diferencia de las hormonas, éstas generalmente actúan a nivel local (54).

Anteriormente era común cuando se referían a las citocinas que se les asignará el nombre dependiendo de las células que las secretaban, por ejemplo las producidas por linfocitos tenían el nombre de linfocinas, y aquellas secretadas por monocitos o macrófagos eran monocinas. En términos generales, actualmente se clasifican de la siguiente manera:

Interleucinas: son citocinas que regulan la interacción entre linfocitos y leucocitos;

Interferones: son sintetizados en la respuesta a una infección viral, Factores de Necrosis Tumorales: son derivadas de macrófagos y células T, y producen muerte celular programada aunque en algunas esta no es su función primaria; Factores de crecimiento: varias citocinas tienen esta función, de estimular el crecimiento celular y Quimiocinas: son una familia de pequeñas proteínas que tienen un papel muy importante en la inflamación (55).

Las propiedades generales de las citocinas son las siguientes:

1. Su síntesis se origina por la transcripción de nuevos genes como resultado de la activación celular (56).
2. Son moléculas pleiotópicas, es decir que tienen la habilidad de actuar sobre diferentes tipos de células (56).
3. Tienen la capacidad de estimular la síntesis de otras citocinas (56).
4. Pueden actuar de manera local o sistémica; aunque es más común de manera local (56).
5. Sus receptores son altamente específicos (56).

Las citocinas tienen un peso molecular menor a los 30 kDa y se clasifican en 4 grupos dependiendo de su estructura. La familia más grande es la del grupo 1 que incluye la IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-11, IL-13, G-CSF, M-CSF, GM-CSF, y los interferones; todas estas moléculas están caracterizadas por tener una estructura de 4  $\alpha$ -hélices. Otro grupo lo constituyen los factores de necrosis tumorales, IL-1 y TGF- $\beta$  que pertenecen al grupo 2 y que se caracterizan por tener una cadena larga. El grupo 3 son proteínas pequeñas que se caracterizan tanto por tener  $\alpha$ -hélices como cadenas largas dentro de las cuales se encuentran las quimiocinas. El grupo 4 tiene estructuras en mosaico y diferentes mezclas de otras estructuras, la IL-12 pertenece a este grupo (55).

Desde el punto de vista de su función biológica las citocinas se clasifican en:

1. Mediadores y reguladores de la inmunidad innata, y estas citocinas son las siguientes: Factor de Necrosis Tumoral, Interleucina 1, Quimiocinas,

Interleucina-12, Interferón tipo 1, Interleucina-10, Interleucina-6, Interleucina-15, Interleucina-18 (Cuadro 2).

2. Mediadores y reguladores de la inmunidad de adaptación, en las cuales están las siguientes citocinas: Interleucina-2, Interleucina-4, Interleucina-5, Interferón- $\gamma$ , Factor transformante de crecimiento- $\beta$ , linfoxina, Interleucina-13 (Cuadro 3)
  
3. Estimuladores de la hematopoyesis son los siguientes: Interleucina-7, Interleucina-3, Factor estimulador de colonias de Granulocitos-macrófagos, Factor estimulador de colonias de Macrófagos, Factor estimulador de colonias de Granulocitos (Cuadro 4).

**Cuadro 2. RESUMEN DE LOS MEDIADORES Y REGULADORES DE LA INMUNIDAD INNATA**

CITOCINA	FUENTE	CÉLULAS BLANCO
Factor de necrosis tumoral	macrófagos, células T	células endoteliales activación de la inflamación
Interleucina-1 (IL-1)	macrófagos, células endoteliales y algunas células epiteliales	células endoteliales activación de la inflamación
Quimiocinas	macrófagos, células endoteliales, Células T, fibroblastos y plaquetas	Leucocitos activación de la quimiotaxis
Interleucina-12 (IL-12)	macrófagos y células dendríticas	Células NK y células T: diferenciación de Th1
Interferón tipo 1 (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ )	IFN- $\alpha$ macrófagos	incrementan la expresión de células MHC I y activa-
	IFN- $\beta$ fibroblastos	ción de células NK
Interleucina-10 (IL-10)	macrófagos y células TH2	macrófagos inhibe la producción de IL-12, estimula Células MHC II
Interleucina-6 (IL-6)	macrófagos, células endoteliales y Células T	células B proliferación de anticuerpos
Interleucina-15 (IL-15)	macrófagos	proliferación de células NK y células T
Interleucina-18 (IL-18)	macrófagos	células NK y células T: síntesis IFN- $\gamma$

Modificado de Tizard, 2000, (55)

**Cuadro 3. RESUMEN DE LOS MEDIADORES Y REGULADORES DE LA INMUNIDAD DE ADAPTACIÓN**

CITOCINA	FUENTE	CÉLULAS BLANCO
Interleucina-2 (IL-2)	células T	<p>celulas T proliferación, incremento de la síntesis</p> <p>De citocinas, apoptosis</p> <p>Células NK activación y proliferación</p> <p>Células B proliferación y síntesis de anticuerpos</p>
Interleucina-4 (IL-4)	Células Th2	<p>celulas B isoforma cambiante a IgE</p> <p>Células T diferenciación de Th2</p>
Interleucina-5 (IL-5)	células TH2	eosinófilos activación e incremento de producción
Interferón-γ (IFN-γ)	células Th1 y células NK	<p>macrófagos activación</p> <p>Células endoteliales activación</p> <p>Varias células incremento en la expresión en MHC I</p> <p>Y II, incremento en la presentación de antígenos a</p> <p>Células T</p>
Factor transformante de crecimiento-β (TGF-β)	células T y macrófagos	<p>celulas T inhibición de la proliferación</p> <p>celulas B inhibición de la proliferación y producción de IgA</p> <p>macrófagos inhibition</p>
linfotoxina (LT)	células T	<p>reclutamiento y activación de neutrófilos y</p> <p>organogénesis linfoide</p>
interleucina-13 (IL-13)	células Th2	inhibición de la activación de macrófagos

Modificado de Tizard,2000, (55)

Cuadro 4. RESUMEN DE LOS ESTIMULADORES DE LA HEMATOPOYESIS

CITOCINA	FUENTE	CÉLULAS BLANCO
Interleucina-7 (IL-7)	médula osea	linfocitos B y T
Interleucina-3 (IL-3)	células T	todas
Factor estimulador de colonias de Granulocitos-macrófagos	células T, macrófagos, células endoteliales	granulocitos y monocitos, activación de macrófagos
CSF (GM-CSF)	fibroblastos	macrófagos
Factor estimulador de colonias de Macrófagos CSF (M-CSF)	macrófagos, células endoteliales,	monocitos
Macrófagos CSF (M-CSF)	médula osea y fibroblastos	
Factor estimulador de colonias de Granulocitos CSF (G-CSF)	macrófagos, fibroblastos y células endoteliales	granulocitos

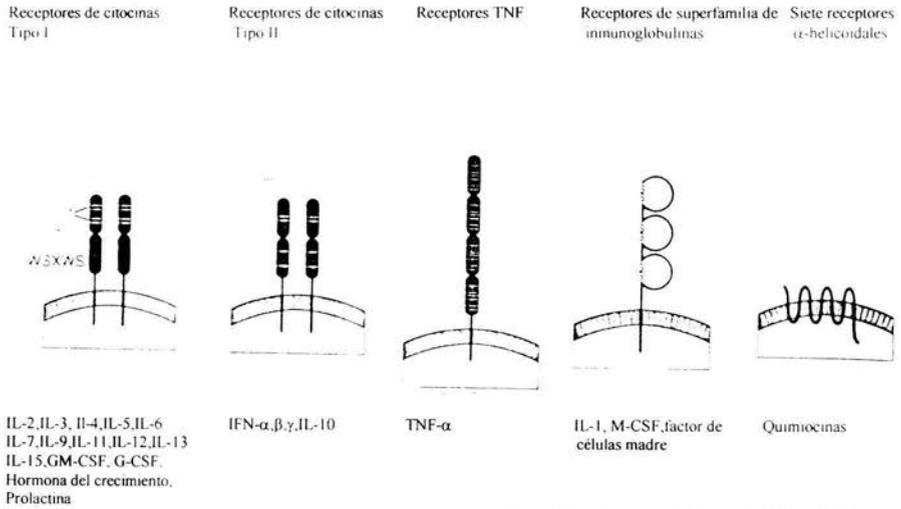
Modificado de Tizard,2000, (55)

Como se mencionó anteriormente, las citocinas actúan como un mensajero intercelular que provoca actividades biológicas particulares después de llevar su mensaje a una célula blanco. Las fuentes principales de producción de citocinas son las células T y los macrófagos, las cuales al ser liberadas activan una amplia red de trabajo de interacción celular. Aunque el sistema inmune responde a antígenos específicos, este también incluye la producción de citocinas. Los receptores de las citocinas tienen una estructura diversa, pero la mayoría pertenece a una de las cinco familias de receptores y son: la superfamilia de receptores a inmunoglobulinas, la familia de receptores de citocinas clase I (también conocidas como familia de receptores a hemopoyetinas), la familia de receptores de citocinas clase II (conocida como familia de receptores de interferón), la familia de receptores de TNF y por último la familia de receptores a quimiocinas. La mayoría de los receptores de las citocinas pertenecen a la primera familia, las cuales han conservado la secuencia de aminoácidos en el dominio extracelular que consiste en 4 residuos de cisteína (CCCC) y conserva una secuencia de triptofano – serina - ( cualquier aminoácido)-triptofano-serina (WSXWS, donde X es el aminoácido que no es constante). Los receptores de clase I son para todas las citocinas clasificadas como hemopoyetinas, las de clase II poseen CCCC aunque solo los 3 interferones,  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  fueron propuestos para ser ligandos de estos receptores aunque estudios recientes muestran que la IL-10 también pertenece a este grupo (Figura 3) (54).

Los receptores a TNF pertenecen a la familia de receptores que conservan los dominios extracelulares con cisteína, estos receptores activan la asociación

intercelular de las proteínas que induce la apoptosis o estimula la expresión de genes o ambas. Por último tenemos siete receptores transmembranales  $\alpha$ -helicoidales los cuales también son llamados receptores serpentina, por que sus dominios transmembranales aparecen en forma de serpiente; esta clase de receptores son sensibles a las quimiocinas (Figura 3) (56).

Fig 3. ESQUEMA DE LA ESTRUCTURA GENERAL DE LOS RECEPTORES A LAS CITOCINAS



Modificado de Abbas 2000, (56)

En resumen, podemos decir que las citocinas tienen funciones muy variadas de las cuales dependen por ejemplo la defensa del hospedero contra agentes patógenos, también regulan la manera en que se va a dar la respuesta inmune en cuanto al crecimiento y diferenciación de linfocitos; finalmente las citocinas proveen los mecanismos para que los linfocitos específicos actúen sobre un antígeno determinado y puedan eliminar a este. La producción excesiva de citocinas también puede ocasionar problemas; por lo que pueden modificar gravemente funciones biológicas como son la respuesta inmune y la respuesta a la inflamación (57 y 58).

## IX. LA RED DE CITOCINAS ENDOMETRIALES

La decidualización es el proceso por el cual los fibroblastos se empiezan a diferenciar transformándose en células deciduales de forma alargada que eventualmente formaran los componentes de la placenta; en roedores, la decidualización comienza en el endometrio en respuesta a la implantación del blastocisto; este evento solo ocurre durante un periodo específico de tiempo en la gestación y pseudogestación o en animales ovariectomizados siempre y cuando el útero haya sido sensibilizado previamente mediante un tratamiento hormonal basado en la combinación Progesterona-estrógenos (59).

Los cambios que ocurren durante la decidualización e implantación embrionaria incluyen la proliferación celular, diferenciación y reorganización de la matriz extracelular; y el reclutamiento de células de la médula ósea. A estos eventos se les ha atribuido un parecido con la respuesta inflamatoria (12).

En el caso de los roedores cuando el semen llega a la vagina y al útero se inicia una respuesta inflamatoria clásica (60). Los leucocitos polimorfonucleares que provienen de la sangre migran a través del endometrio para poder alcanzar la luz uterina (60). Esta respuesta granulocítica temprana también incluye a los macrófagos, células cebadas y linfocitos que se van infiltrando. En el ratón las células fagocíticas eliminan el semen en los días 1 y 2 de gestación (se considera como día 1 la presencia del tapón vaginal post-coito) (3).

En la búsqueda de los sitios de síntesis de citocinas en el endometrio, se han empleado diferentes modelos biológicos en mamíferos. Los resultados señalan que entre las moléculas sintetizadas en el epitelio uterino se encuentran: el factor estimulador de colonias de Macrófagos-Granulocitos (GM-CSF), el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ), el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF $\beta$ ), la Interleucina-1 (IL-1), la interleucina-6 (IL-6) y el Factor inhibidor de la leucemia (LIF) (Cuadro 5) (3).

**Cuadro 5. EXPRESIÓN DE CITOCINAS Y FACTORES DE CRECIMIENTO POR  
DIFERENTES TEJIDOS UTERINOS EN LA PREÑEZ TEMPORANA EN  
MURINOS**

Citocina/factor	Tejido	día de preñez
<b>De crecimiento</b>		
CSF	epitelio luminal y glandular	1-15 (14, 15)*
GM-CSF	epitelio luminal y glandular	1, 10*
IL-1alfa e IL-1beta	macrófagos y endotelio	(4-5)*
IL-6	epitelio luminal y glandular	1, 10*
TNF alfa	epitelio luminal, glandular	5, 6
	Estroma y decidua	7, 8
LIF	epitelio glandular	4
TGF-alfa	Epitelio glandular, luminal	1-4
	Leucitos estromales	1-4
	Estroma	4
	Epitelio luminal y decidua	5-8 (7, 8)*
	Embrión	5, 6
TGF-beta1	epitelio luminal y glandular	1-4
	Decidua	4-8
TGF-beta2	epitelio glandular, luminal, miometrio	1-8
	Decidua	4-8
TGF-beta3	miometrio	1-8
	Embrión	4-8
IGF-1	epitelio luminal y glandular	1-4
	Estroma	3-4
	Miometrio	4
	Decidua y blastocisto	5

Modificado de Alvarez (3)

\*mayor producción

## CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS CITOCINAS QUE PARTICIPAN EN LA IMPLANTACIÓN

La IL-1, IL-6 junto con el TNF $\alpha$  constituyen un grupo de moléculas que se consideran como proinflamatorias y estimulan la proliferación, diferenciación y apoptosis. En el caso del ratón hembra los RNAm de IL-1 $\alpha$  y  $\beta$ , así como las proteínas bioactivas uterinas en la etapa de pre-implantación se elevan en el día 3 de preñez con un pico entre los días 4 y 5, y es en el quinto día cuando se inicia la implantación del blastocisto (61). En la preñez del ratón hembra la actividad máxima de IL-6 se identifica en los días 5 y 6, situación que es paralela a la neovascularización de las prolongaciones de los vasos sanguíneos en la decidua materna. Por consiguiente es posible que la IL-6 participe como inductor de la angiogénesis uterina (62).

El Factor Estimulante de Colonias 1 (CSF-1) se ha señalado como un inductor de la acumulación de macrófagos en el útero; es posible que este factor además active a los macrófagos para que sintetizen IL-1 y el interferón  $\alpha$ , el cual puede actuar directamente sobre las células de la unidad útero-placentaria. En la ratona preñada, la síntesis del CSF-1 por el epitelio, es más de 1000 veces mayor a la encontrada en hembras no preñadas (63). Los niveles significativos de este factor se detectan el día 3 de preñez, previo a la implantación. En esta especie, el receptor para CSF-1 se expresa en la decidua cercana al blastocisto. En el momento de la implantación, el RNAm del receptor para CSF-1 se localiza en el estroma. Por lo anterior podemos deducir que el CSF-1 en el útero es necesario

para mantener una población normal de macrófagos en el útero los cuales al ser estimulados por el CSF-1 producen citocinas que actúan sobre el trofoblasto y otras células linfoides en el útero (64, 66 y 67).

Por otro parte el GM-CSF también participa en la regulación de la proliferación, diferenciación y la actividad funcional de los neutrófilos, macrófagos y eosinófilos. Esta molécula es sintetizada por las células del epitelio uterino en las fases tempranas y a la mitad de la gestación. Los niveles mas elevados del GM-CSF en el fluido luminal se observan a los pocos minutos después del apareamiento lo que da como resultado la respuesta inflamatoria post-coito (60 y 65).

La máxima expresión del GM-CSF en el epitelio endometrial en la gestación temprana es 24 horas después de la cópula y se asocia con la presencia de poblaciones abundantes de leucocitos en el endometrio (66).

Respecto al factor de crecimiento insulínico-I (IGF-I) y su RNAm, se ha informado de su presencia en el útero de la rata el cual es expresado en el epitelio glandular y luminal cuando se lleva a cabo la implantación. La función de este factor responde a la acción de las hormonas ováricas lo que origina cambios potenciales en el control del mecanismo endocrino y parácrino responsable de los cambios locales (12).

El IGF-I es conocido también por la importancia postnatal y prenatal que tienen, mientras que el IGF-II promueve el crecimiento fetal y su desarrollo; en el conejo

esta molécula aumenta sus concentraciones de manera drástica pudiendo atravesar la placenta e influir directamente en el crecimiento fetal. Los ratones carentes del gene de IGF-II muestran un desarrollo muy pobre en cuanto a tamaño y el crecimiento de sus órganos también se encuentra alterado (68).

Las concentraciones elevadas de IGF-I y de insulina afectan la implantación del embrión, estas altas concentraciones de insulina inducen la pérdida de sus receptores en numerosas células; esta citocina y la insulina operan por la vía del receptor IGF-1R el cual tiene un papel vital en la regulación de la apoptosis. La apoptosis es un proceso normal en la implantación embrionaria en humanos y en roedores ya que su regulación es esencial para el desarrollo futuro del embrión; pero una elevada cantidad de IGF-I y de insulina provoca un descontrol en el proceso de apoptosis llevando a una reabsorción embrionaria (69).

El factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF  $\beta$ ) presenta cinco isoformas, de las que tres se han identificado en los mamíferos y 4 son de 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 (70). Estas tres isoformas, se han encontrado en diferentes compartimentos uterinos en el ratón hembra, durante la etapa de previa y posterior a la implantación (71). La expresión de la isoforma TGF $\beta$ -1 ocurre en el epitelio y la decidua, durante el periodo de peri-implantación; por otro lado, también se ha detectado este péptido en la matriz extracelular. La isoforma TGF  $\beta$ -2 se sintetiza en los epitelios luminal y glandular durante los días 1 al 4 de preñez en la rata. 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. Por el contrario, el único sitio de síntesis del TGF $\beta$ -3 es el miometrio (64).

Respecto al TNF  $\alpha$ , éste se sintetiza en el endometrio, y está confinada su síntesis al epitelio luminal, las células deciduales y en el trofoblasto placentar. En el conceptus de el ratón, el RNAm de este factor está restringido a las células del trofoblasto que se encuentran en estrecha relación a la madre. Por lo anterior se ha propuesto que el TNF  $\alpha$  ejerce una función protectora hacia la madre y evita de alguna manera la invasión excesiva de las células del trofoblasto hacia el interior del útero. El TNF $\alpha$  es una de las citocinas que ha sido extensamente estudiada entre la implantación embrionaria y la receptividad del útero; en los roedores esta ha sido detectada al momento de la implantación y su presencia de receptores ha sido demostrada en el blastocisto, en células del trofoectodermo y células madre del embrión. Estudios *in vitro* han demostrado que este factor decrece la proliferación celular y la capacidad de diferenciación de células madre del embrión (21).

Por otra parte el Factor Inhibidor de la Leucemia (LIF), se ha detectado en el útero del ratón hembra en dos picos muy importantes: el primero en el estro, previo a la ovulación y el segundo al día 4 de la preñez y su localización se limita a las glándulas endometriales. Se ha propuesto que la expresión de esta citocina no depende de la presencia de embriones viables, ya que también ocurre en el día 4 en hembras pseudogestantes, 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 la preñez (72).

Esto se puede sustentar al analizar la 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 trofoectodermo cuenta con los receptores para esta molécula. Niveles importantes de LIF son expresados en las glándulas endometriales del ratón en el día 1 de gestación y empiezan a declinar en el día 3 de esta etapa, una segunda expresión de este factor es en el día 4, el cual declina en el día 5; al parecer este factor es de vital importancia ya que su carencia no permite una implantación exitosa (10).

El factor de crecimiento epidermal (EGF) y sus receptores (ErbBs) regulan el desarrollo del blastocisto y la diferenciación e invasividad del trofoblasto de una manera autócrina, haciendo al blastocisto capaz de penetrar en el epitelio uterino; en el día 1 de preimplantación. La proteína EGF es distribuida en el estroma uterino y el miometrio a un nivel basal; en el día 2 el epitelio uterino produce cantidades muy elevadas de EGF; y en el día 3 el sitio de expresión del EGF empieza a cambiar del epitelio uterino al estroma; para el día 4 se localiza ya en

el estroma, esta distribución va en correlación con la proliferación celular del útero y es hasta sobre el día 6-8 en el sitio de la implantación. El EGF es localizado en el polo mesometrial al mismo tiempo que la placenta se va formando y estableciéndose (73).

La expresión del EGF y sus receptores (ErbBs) en la implantación embrionaria sugiere que estos factores del crecimiento sirven como mediadores locales en la interacción embrión-útero durante la implantación (71). Dentro de la familia del EGF encontramos al factor de crecimiento transformante  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), factor de crecimiento similar al factor de crecimiento epidermal (HB-EGF), amphiregulina (Ar),  $\beta$ -celulina (BTC), epiregulina (Er); estas moléculas son sintetizadas como proteínas transmembranales las cuales al liberarse se encuentran en una forma apta para cumplir su función, es decir son biológicamente activas.

Estos ligandos interactúan con el receptor de la tirosin-cinasa del erbB, el cual contiene 4 receptores para este erbB1, erbB2, erbB3 y erbB4 los cuales comparten una estructura en común pero en la especificidad de sus ligandos y de su actividad cinasa; por lo que estos subtipos de receptores con varios ligandos pueden servir como un mecanismo de comunicación molecular importante (74).

En los ratones el TGF- $\alpha$ , HB-EGF, Ar, BTC y el Er son expresados en el útero al momento que se lleva a cabo la implantación. El TGF- $\alpha$  es expresado en gran cantidad en el útero del ratón en el periodo de la peri-implantación, sin embargo, su papel en esta etapa es cuestionable ya que ratones carentes del TGF- $\alpha$  de manera experimental son aparentemente fértiles; aunque es posible que la

ausencia del TGF- $\alpha$  es compensada por otros miembros de la familia del EGF. El Er es inducido en el epitelio uterino en el día 4, y este parece ser un importante activador del erbB1 en el útero y en el blastocisto teniendo un papel de comunicación intrauterina (75).

El HB-EGF en apariencia es altamente relevante en el proceso de implantación ya que es expresado en el epitelio luminal rodeando al blastocisto de 6 a 7 horas después del contacto con la pared uterina; esto sugiere que las señales del blastocisto provocan que el epitelio luminal exprese el HB-EGF (76).

ErbB1 y erbB4 son expresados en el blastocisto de ratón interactuando con Er, BTC y HB-EGF (77). En general la expresión de múltiples ligandos y receptores de la familia del EGF pudiera ser un mecanismo de protección para asegurar la alta probabilidad de desarrollarse el embrión y poder implantarse en el epitelio uterino (78).

En los conejos se han detectado señales de EGF, TGF- $\alpha$  y HB-EGF en el epitelio luminal y glandular en el sexto día de gestación; y en el día 7-8 se expresan el erbB1, erbB2 y erbB3; estos se encuentran también en animales no gestantes, pseudogestantes y gestantes lo que implica que tienen un papel en la función de la fisiología epitelial de estos receptores. En esta especie una vez iniciada la proliferación celular del estroma uterino como en otras especies, la decidualización tiene características diferentes en cuanto a diferenciación celular, morfología y actividad en los genes, dando como resultado un incremento en la expresión de

erbB1, erbB2 y erbB3. Hasta el momento se sabe muy poco de estos factores de crecimiento en los conejos por lo que esta especie representa un atractivo modelo diferente a los roedores para el estudio del EGF y sus ligandos en las interacciones del embrión con la madre durante la implantación (31).

Una de los factores de crecimiento recientemente estudiado es el factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF) el cual parece ser inducido por el TGF $\beta$  y el EGF (78). En el día 1.5 a 3.5 de gestación se localiza en el epitelio luminal y glandular de una manera similar a un ratón no gestante; aquí este factor ayuda a la distribución de varias estructuras del embrión; más adelante se va a localizar en la parte apical de este epitelio en los días 2.5 a 3.5; aunque este factor disminuye su concentración en el día 4.5 (79).

Por otra parte, el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) se detecta al final de la etapa de gastrulación; e interviene en el desarrollo de la placenta, hígado y músculos, se expresa en el mesenquima y su receptor (HGFR) es expresado en el epitelio; también se ha observado que el HGF se adhiere a las células endoteliales induciendo su crecimiento por lo que se puede decir que estimula la angiogenesis en la placenta y estimula el crecimiento del trofoblasto (80).

Por otra parte el interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) que es secretado por las células asesinas naturales (NK) en el útero, estas células son conocidas por ser la población de linfocitos más abundante en el útero, en el periodo de gestación temprana (81 y 82); al parecer el IFN- $\gamma$  interviene en la remodelación de las arterias de la decidua

y en el mantenimiento de la integridad de la misma (83). En el ratón hay una importante migración celular de células NK que se encuentran en contacto con las arterias de la decidua, en adición con la angiopoyetina-1 (Ang-1), que es un factor que se liga a su receptor sobre las células endoteliales y promueve la estabilidad de los vasos vía TGF- $\beta$ . La angiopoyetina-2 es el antagonista natural de Ang-1 y puede desestabilizar las arterias; en ratones se ha reportado que las células uNK producen VEGF que es regulado por el IFN- $\gamma$  (83, 84, 85 y 86).

Otra glicoproteína asociada al proceso de implantación es la haptoglobina la cual se libera a la sangre ya sea por inflamación o trauma, esta afecta el sistema inmunológico al interactuar con linfocitos y en la coneja esta se encuentra presente al final del sexto día de gestación y tiene una actividad angiogénica (87).

Otro factor del crecimiento que interviene en la formación del mesodermo es el factor del crecimiento de fibroblastos-2 (FGF-2), que promueve el proceso de gastrulación en el día 6 y 7 de gestación en la coneja. Estudios recientes han demostrado que el FGF-2 tiene una afinidad muy alta por la heparina, por lo que la superficies celulares con moléculas semejantes a la heparina actúan como receptores de baja afinidad; este factor del crecimiento promueve la diferenciación y migración celular en el blastocisto del conejo (88) .

## X. LAS CITOCINAS Y SU INTERACCIÓN CON LAS HORMONAS ESTEROIDES OVÁRICAS

En investigaciones realizadas en los últimos años, se ha demostrado que algunas moléculas sintetizadas por células del sistema inmunológico funcionan como un regulador local de las funciones ováricas. Numerosos estudios han demostrado que diversas citocinas modulan el proceso reproductivo y están implicadas como reguladores de la secreción de hormonas esteroides gonadales, del funcionamiento de cuerpo lúteo, del desarrollo embrionario y de la implantación (89).

En los roedores se ha informado de varias moléculas que intervienen en el proceso de implantación embrionaria como el Factor Inhibidor de la Leucemia (LIF), Factores estimuladores de Colonias, Factores del Crecimiento Epidermal (EGF), Factor de Crecimiento Transformante  $\alpha$  y  $\beta$  (TGF  $\alpha$  y TGF $\beta$ ); que han sido fuertemente implicados en la regulación uterina tanto para su remodelación, implantación y placentación. Por lo que la acción coordinada de estas moléculas sobre las células uterinas y extraembrionarias parece ser un mecanismo fundamental para que la gestación se mantenga y sea exitosa (79).

Para que el tejido uterino este apto para interactuar con el embrión y poderse llevar a cabo la implantación, estos tejidos presentan distintos ciclos de proliferación y diferenciación celular que son inducidos por las hormonas esteroides de origen ovárico, que son los estrógenos y la progesterona; algunos

de estos cambios son directamente mediados por la acción de las hormonas sobre las células o son indirectamente reguladas a través de la inducción de producción de factores del crecimiento y citocinas (90).

En los roedores, se ha demostrado que la implantación es facilitada por un aumento transitorio de estrógenos, el cual ayuda a la implantación a través de factores como el LIF que se expresa en el ratón a nivel del epitelio glandular al momento de la ovulación y en el cuarto día de gestación (91).

El aumento de estrógenos en el cuarto día de la gestación del ratón induce la síntesis de factores de transcripción, factores del crecimiento y proliferación celular en el estroma de las células uterinas. La transcripción del LIF es regulada en el epitelio glandular después de 1 hora de haber administrado estrógenos, esta expresión persiste después de 5 a 6 horas (90).

En ratones que experimentalmente carecen de este factor no responden al blastocisto por lo que el epitelio luminal entra en un proceso de apoptosis. Cuando a estos ratones deficientes del LIF se les administra una inyección por vía intraperitoneal de este factor al inicio de la gestación, con esto es suficiente para evitar la falla en la implantación, lo que revela que durante el ciclo de vida del ratón, LIF es esencial para el inicio de la implantación, pero no es requerida para el desarrollo embrionario o para el mantenimiento de la gestación (90).

En el conejo se ha demostrado que la producción del LIF es estimulada por la progesterona, lo que es contrario al efecto de los estrógenos, por lo que es evidente que los requerimientos de progesterona son esenciales para la implantación del blastocisto de conejo. El LIF empieza a incrementarse en el día 3 y alcanza sus niveles más altos en el día 5 y 6 aunque el mecanismo por el cual la progesterona regula el LIF ya sea de manera directa o indirecta aún no se conoce plenamente (92).

También se ha visto que las hormonas esteroidales controlan la expresión de los ligandos de la familia del EGF y sus receptores en el útero gestante (28). Esta interacción resulta de la diferenciación o proliferación celular del epitelio y del estroma. Investigaciones recientes han mostrado que la expresión del receptor de estrógenos (ER) ocurre de una manera temporal y específica; en el día 2 es primeramente localizado en el epitelio glandular y luminal; en el día 3 y 4 se encuentra acumulado en células del estroma además de su presencia en el epitelio. Sobre el día 6-8, la acumulación de ER-alpha RNAm se localiza en la segunda zona decidual y de manera más abundante en las células subepiteliales del polo mesometrial; la distribución de EGF aquí es similar a la del ER RNAm, lo que nos indica que el EGF probablemente este involucrado en el camino de la señalización de los estrógenos que regula la proliferación y diferenciación celular (93).

En los conejos la interleucina 6 (IL-6), es liberada por el ovario y también se ha demostrado su producción basal en cultivos de líneas celulares cancerosas de

ovario, y se ha demostrado que las células de la granulosa son un sitio activo de biosíntesis de la IL-6 (89).

Por lo anterior, en la coneja la IL-6 probablemente actúa de manera parácrina o autócrina como regulador de la esteroidogénesis ovárica, así mismo, la IL-1 es inhibida por las gonadotropinas, por lo que podemos asumir que las gonadotropinas podrían inhibir la producción de IL-6 y producir un incremento de la producción de estradiol (89).

En la rata la capacidad de expresar de manera espontánea la IL-6 *in vitro* sugiere que cuando el tejido decidual es cultivado *in vitro*, inhibidores potenciales de la expresión de IL-6 son removidos. Múltiples agentes activan la transcripción del gene de IL-6, hormonas esteroides como la progesterona, estrógenos y receptores a glucocorticoides han sido descritos como potentes represores de la IL-6 (94).

El estradiol causa una fuerte inhibición de la expresión decidual del RNAm de la IL-6 y de las proteínas necesarias para su codificación, en cambio la progesterona se ha visto que inhibe la IL-6 en el cuerpo lúteo, por lo que se sugiere que el efecto de las hormonas esteroides sobre la IL-6 es específico (26).

La progesterona puede mediar la proliferación celular de forma indirecta mediante factores del crecimiento y sus receptores; ésta regula la expresión de diferentes factores del crecimiento en el estroma uterino y células deciduales como los mencionados anteriormente; además los receptores de estos factores del

crecimiento son inducidos por la progesterona en el endometrio. Estudios previos han mostrado que la distribución del factor del crecimiento de fibroblastos (FGF) en células del estroma uterino en la rata están correlacionados con la proliferación de las células del estroma uterino; además esta también es regulada por los estrógenos y estas células expresan alta afinidad al receptor de FGF al momento de su proliferación (95).

En los roedores, la prolactina (PRL) y otros lactógenos relacionados, están mediados por un receptor (PRLR). Este receptor es una simple proteína transmembranal y pertenece a la clase I de receptores de la superfamilia de las citocinas, la producción uterina de PRL y proteínas similares a PRL, lo que sugieren un papel muy importante de esta hormona en el establecimiento de la gestación; aunque sus funciones durante el periodo de peri-implantación en el ratón aún se desconocen (28).

En la decidua de la rata se expresan los receptores a PRL y secreta proteínas semejantes a PRL, las cuales regulan varias funciones del tejido decidual (28), esta es conocida por su acción inmunoestimuladora, pero en este caso inhibe la producción de IL-6 en la decidua (26).

En los fluidos de los folículos ovárico existe el factor inhibidor de la leucemia (LIF), interleucina 11 (IL-11), factor de necrosis tumoral (TNF) y el interferón gamma (IFN $\gamma$ ); de los dos primeros se conoce muy bien su función que es clave en la implantación embrionaria (96). La función del LIF en el fluido folicular no se conoce

aún; la IL-11 esta presente en fluidos de folículos preovulatorios, esta proteína se encuentra también muy relacionada con la atresia folicular (97).

El TNF tiene un papel esencial en la foliculogénesis y maduración ovárica; este afecta la esteroidogénesis de células de la granulosa y de la teca (98); el IFN $\gamma$  casi no es detectable en el fluido folicular, esto nos indica que su papel puede ser el de prevenir infecciones; en ratones carentes de esta citocina no presentan ninguna anomalía en su fertilidad ni en el periodo de gestación (83).

Recientemente se ha informado de la importancia de la stanniocalcina (STC), es una hormona recientemente descubierta que regula el calcio, durante la gestación el gene de STC se expresa de manera muy alta en el desarrollo embrionario del ratón; en el día 5 de gestación este se expresa en el epitelio uterino y es hasta el día 8 que sus niveles comienzan a bajar. También se ha propuesto que esta hormona también participa en la remodelación uterina, incluso esta hormona aumenta en el ciclo estral por lo que pudiera estar asociada al crecimiento y mantenimiento de las paredes uterinas (99, 100 y 101).

## XI. EL USO DE CITOCINAS PARA EXPERIMENTACIÓN

En los últimos años se ha demostrado que las citocinas y los factores del crecimiento actúan tanto de una manera autócrina como parácrina y de esta manera regulan el desarrollo embrionario; por lo que para poder definir cada función de las citocinas se han tenido que investigar en donde se encuentran sus receptores mediante estudios *in vivo* e *in vitro*. Hasta la fecha estos estudios han mostrado la interacción de algunos factores del crecimiento como el factor inhibidor de la leucemia (LIF) (5).

Las técnicas moleculares de clonación han revolucionado la producción de una amplia variedad de proteínas, entre ellas las citocinas; hasta la fecha se tienen mas de 50 genes identificados para realizar diferentes combinaciones entre citocina/receptor, aunque faltan un número muy grande por investigar, ya que el mayor problema que se tiene en la investigación de citocinas es la especificidad por especie, lo que significa que las citocinas del ser humano tienen una actividad biológica limitada en los sistemas animales, inclusive en modelos como el ratón y la rata, que son muy cercanos filogenéticamente la acción intercambiable de citocinas a veces no es posible (102).

En las especies domésticas, el desarrollo de métodos para el sexado y clonación de embriones, así como la producción de animales genéticamente modificados, representan una probabilidad para mejorar las técnicas que incrementen los índices de la implantación embrionaria, después de haber sido sometido a

estudios *in vitro*. Estudios futuros se pueden enfocar sobre la definición de métodos para identificar la presencia de factores del crecimiento que harán que aumente el índice de implantación y disminuyan las dificultades del embrión para poderse adherir a la pared uterina (5).

El reto para definir la naturaleza de la receptividad uterina, y poder entender las interacciones moleculares entre el embrión-endometrio permanecen aún sin conocerse en su totalidad, aunque esta bien establecido que un grupo local de factores de crecimiento que son mediados por efectos de esteroides sobre el endometrio, en numerosos procesos tisulares necesarios para poderse llevar a cabo la implantación como son: la proliferación, la angiogenesis y la secreción. La identificación del LIF como factor del crecimiento es esencial en la implantación en el ratón, por lo que ahora el reto es determinar si el LIF juega un papel similar en otras especies como en el humano o el conejo, en que se conoce muy poco acerca de este factor del crecimiento, debido que el control esteroideal es diferente en estas especies sería interesante conocer si el efecto es el mismo. En la búsqueda por definir que factores del crecimiento son importantes en producir un útero receptivo, muchos estudios están comparando el perfil de síntesis y secreción de factores del crecimiento en mujeres fértiles e infértiles, el cual está empezando a arrojar resultados que sugieren que la existencia de diferencias en la expresión de los factores del crecimiento, por ejemplo el LIF se incrementa en la presencia de la interleucina 1 (IL-1) esto es en mujeres fértiles, sin embargo en las mujeres infértiles el LIF se encuentra totalmente disminuido (103).

Las especies en las que se conoce mayor número de citocinas hasta el momento son la humana y el ratón, siendo lo contrario en la rata y el conejo en donde la información es fragmentada e incompleta, por lo que el reto en estas especies es identificar un mayor número de citocinas constituyéndose en un campo muy amplio de estudio (102).

El uso de las citocinas para experimentación también abarca aplicaciones clínicas en las cuales se tiene mucho que aprender acerca de estas, por lo que podemos citar algunas en las que se está trabajando. El factor estimulador de colonias de macrófagos-granulocitos (GM-CSF) el cual se está probando en casos de neutropenias por agranulocitosis idiopáticas ya sea por quimioterapia o por anemia aplásica; también se usan en síndromes mielodisplásicos, postrasplante de médula y es importante en la movilización de células progenitoras madres de la médula ósea a la sangre periférica (104). El factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF) se ha estudiado su utilidad de la teoría del cáncer (104). Así mismo el interferón  $\beta$  (IFN- $\beta$ ) ha surgido como la primera droga capaz de producir efectos positivos en pacientes con esclerosis múltiple, al interferón  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) se le ha encontrado aplicación para pacientes que padecen granulocitosis crónica; el potencial que se ha abierto para producir en cantidades terapéuticas estos mediadores celulares ofrece la ventaja de poder encontrar alguna citocina que, por sí sola o asociada a otras con estimulantes de la respuesta inmune, sea capaz de combatir enfermedades como el Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) ó el cáncer (54).

En el caso del cáncer de la glándula mamaria se ha visto que los estrógenos y sus receptores tienen un papel muy importante en la formación y progresión de células malignas, esto se da de manera conjunta con factores del crecimiento como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el reto en este caso es poder encontrar los mecanismos moleculares en los que se comprenda esta relación para establecer una terapia hormonal adecuada en pacientes que inician con este problema (105 y 106).

Por otro lado el interferón  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) se empieza a emplear como tratamiento en pacientes con cáncer cervical, aunque estos tratamientos no siempre son efectivos ya que deben de ser estudiados más a fondo para lograr un éxito mayor (107).

El funcionamiento de la red de citocinas sintetizadas por varias células, tanto en humanos como en otras especies, permanece en su mayoría por ser definida, en el caso de la implantación embrionaria estas moléculas están ofreciendo un amplio potencial de estudio para poder conocer de una mejor manera como se lleva a cabo la adhesión del blastocisto y todos los eventos moleculares que ocurren a nivel local y poder conocer el papel de las citocinas en este evento a nivel del epitelio luminal uterino (64 y 104).

## XII. PERSPECTIVAS EN EL USO DE LAS CITOCINAS CON FINES TERAPÉUTICOS COMO ESTRATEGIA EN LOS PROGRAMAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

La habilidad para poder purificar citocinas y sus receptores, ofrece interesantes opciones clínicas específicas que modulan y pueden ayudar a la respuesta inmune; algunas citocinas, sobre todo los interferones y el GM-CSF pueden tener algunos usos terapéuticos. Las citocinas tienen una vida media muy corta, por lo que su administración debe ser continua; por ejemplo la interleucina 2 (IL-2) tiene una vida media de 7-10 minutos si se administra de manera intravenosa; podemos decir que las citocinas son un biológico extremadamente potente capaz de causar respuestas indeseables y efectos impredecibles; estos pueden ser desde fiebre, diarrea, aumento de peso; hasta reacciones más serias como anemia, trombocitopenia, disnea y coma (54).

El estudio de las citocinas se puede enfocar en tratar de comprender la infertilidad femenina y los casos de aborto espontáneo en hembras, la importancia de poder saber como prevenir estos eventos es con el fin de asegurar un buen ambiente uterino en presencia del embrión y poder llegar al término de la gestación sin ninguna dificultad (108).

En investigaciones recientes se ha visto cuales pueden ser los posibles fracasos de la gestación y cuales pueden ser las citocinas que pueden hacer que se eviten complicaciones durante la gestación. Uno de estos factores es el plasma seminal

que promueve la inflamación y la expresión de citocinas en el epitelio uterino después de la cópula (109). El Factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF $\beta$ ) se encuentra en el plasma seminal del hombre y de los roedores; este provoca eventos a nivel molecular en el útero para provocar la inmunotolerancia a los antígenos paternos. Este factor del crecimiento está siendo usado principalmente para evitar abortos en las mujeres (110). Otras funciones del TGF  $\beta$  en los órganos reproductivos masculinos se han observado en ratones al carecer de este factor, tienen lesiones severas en el tracto reproductor, por ejemplo los machos son 100% infértiles, con una disminución en la producción de testosterona, disminución del libido y problemas al momento de la eyaculación TGF $\beta$  (111).

Las células presentadoras de antígenos (APCs) en coordinación con las respuestas inmunes que ocurren en el ambiente uterino durante la inseminación, van a presentar macrófagos y células dendríticas que están implicadas también en la tolerancia a antígenos paternos, también actúan en la regulación de poblaciones de células T en el endometrio y en la decidua. Actualmente los investigadores se están enfocando para conocer el papel de las citocinas y el de las APCs como un único mecanismo para procesar el Complejo Principal de Histocompatibilidad materno (MHC) para regular la receptividad endometrial para la implantación del blastocisto (112). Otras interleucinas estudiadas son la interleucina 10 (IL-10) y la interleucina 6 (IL-6) que contribuyen a los eventos antes mencionados, es decir que los eosinófilos y macrófagos contribuyen a la remodelación tisular en el tracto reproductivo y la glándula mamaria, particularmente en la receptividad al embrión (113).

El GM-CSF tiene un papel muy importante en el desarrollo embrionario de embriones humanos el cual ha sido implementado para su aplicación terapéutica para ayudar a la proliferación y diferenciación celular y la sincronización del crecimiento del embrión (114 y 115).

También se ha propuesto el uso de las citocinas como método de diagnóstico; se pueden medir los niveles séricos del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) en masas ováricas (quistes foliculares, quistes en el cuerpo lúteo y endometriomas) las cuales no son neoplásicas, en neoplasias benignas y malignas; por lo que podemos decir que el VEGF puede ser considerado un marcador de tumores con la ayuda de un buen diagnóstico como la laparoscopia y así poder diferenciar la naturaleza de masas ováricas (116).

Otro problema que se ha detectado en la reproducción en el cual están involucradas las citocinas, es en el aumento del factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF  $\alpha$ ) el cual ha sido asociado con abortos espontáneos, preeclampsia e infertilidad relacionada a endometriosis; estos problemas han despertado el interés de los investigadores para poder evitar estas complicaciones en el ser humano, pero hasta el momento no se conoce alguna terapia contra estos factores (117, 118 y 119).

### XIII. DISCUSIÓN Y PERSPECTIVAS

Si bien la participación de las citocinas en la respuesta inmunológica ha sido mas ampliamente abordada por los investigadores en los últimos años y prueba de ello es la abundante literatura disponible en revistas científicas de circulación internacional y nacional, la presente revisión nos da una panorámica, aunque no detallada, de la participación de estas moléculas en la función reproductiva en diferentes eventos biológicos en las tres especies consideradas en esta revisión.

Como se menciona, las citocinas favorecen la inmunidad celular, la respuesta inflamatoria, la inmunidad humoral, la mielopoyesis, a adhesión intercelular y la tolerancia inmunológica. Asimismo la fuente celular de estas moléculas es muy diversa debido a que son sintetizadas por macrófagos, queratinocitos, células endoteliales, células cebadas, fibroblastos, células mesenquimatosas, células NK, epitelioscitos luminales y glandulares del útero, células estromales y deciduales, células del embrión, células del miometrio, células endometriales, células de la placenta, células de la granulosa y tecas ováricas y células del cuerpo lúteo, entre otras.

Las citocinas producidas por los linfocitos se conocen como linfocinas, muchas de ellas actúan sobre los leucocitos y se les denomina interleucinas, de las cuales hasta el momento se han descrito más de 20.

Las células del sistema inmunológico son activadas en respuesta a diversos estímulos, produciendo citocinas las que participan en la regulación del crecimiento, la diferenciación de varios tejidos, y la secreción de diversas hormonas hipotalámicas e hipofisarias (54, 55 y 56).

Como todos los mediadores biológicos, las funciones de la citocinas son mediadas por receptores específicos en las células blanco. Tales receptores son glucoproteínas de membrana con dominios intracelulares y extracelulares. Por lo general, tienen cuando menos dos unidades funcionales, una para la unión del ligando y otra para la trasducción de señales, que se puede localizar o no en la misma proteína. Estos receptores de citocina se clasifican en cuatro familias principales con base en su estructura y sus actividades, a saber la familia de receptores de citocina-interferón , la familia de cinasas receptoras , la familia de receptores de TNF y la familia de receptores de serpiente (55 y 56).

Los cambios tisulares del útero durante la implantación embrionaria son regulados en buena parte por los estrógenos y la progesterona, estas hormonas regulan la proliferación y diferenciación de los componentes celulares del útero.

Los factores de crecimiento junto con las citocinas, que son proteínas de bajo peso molecular, van a intervenir en la regulación hormonal durante la gestación temprana.

Se han efectuado estudios en modelos animales de experimentación como son el ratón, la rata y el conejo en los que se ha evaluado el funcionamiento y la interacción de las citocinas de origen endometrial con las hormonas ováricas.

Gracias a esos trabajos hoy en día se sabe que el Factor Estimulante de Colonias-1 (CSF-1) y el Factor Estimulante de Colonias de Macrófagos Granulocitos (GM-CSF) regulan la población de macrófagos uterinos y la respuesta inflamatoria post-coito en los roedores (60, 64 y 66).

También se ha estudiado el efecto del Factor de Crecimiento Insulínico-II (IGF-II), el cual regula el tamaño y crecimiento de los órganos del embrión. Por otra parte, el Factor de Crecimiento Transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) y el Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) tienen una función protectora hacia la madre evitando una invasión excesiva del trofoblasto hacia el epitelio uterino (68 y 21).

En el caso del ratón hembra el Factor Inhibidor de la Leucemia (LIF) está mediado por los estrógenos; contrariamente en el conejo este es mediado por la progesterona. Este factor es de gran importancia durante la implantación embrionaria, ya que se ha visto que no tiene efecto alguno después de este evento (90 y 92).

El presente trabajo nos lleva a confirmar la importancia que tienen las citocinas de origen endometrial en la implantación embrionaria. El estudio de esta familia de moléculas proteicas es gran interés en la actualidad ya que su manipulación

génica nos brinda la posibilidad de contar con terapias para resolver problemas que son causa de infertilidad y aborto.

Fisher *et al* (120), recientemente han publicado un trabajo en el que informan sobre el primer evento molecular por el que el embrión humano puede fijarse al útero a los seis días de vida. Este evento molecular está dado por la L- selectina trofoblasto que es una proteína sintetizada por las células del trofoblasto cuando es el momento óptimo para la implantación y que es una molécula especializada en la adhesión. Esta aportación constituye una valiosa herramienta para diagnosticar y comprender en buena parte la fisiopatología de la infertilidad y la pérdida temprana del embrión. Hasta ahora no se conocía con certeza el mecanismo que modula la adherencia del embrión al útero. No obstante los notables avances logrados por los biólogos celulares y moleculares en los últimos años, hasta el momento el conocimiento sobre los mecanismos que regulan la implantación embrionaria aún es escaso. Actualmente existen muchas preguntas respecto a la biología de la implantación a las que aún no se les da respuesta, por ejemplo ¿ que es lo que determina que un embrión sepa cual es el momento idónea para adherirse al endometrio?; ¿ En que orden cronológico son secretadas y actúan las citocinas de origen endometrial?; ¿ que papel desempeña la progesterona y los estrógenos en el comportamiento del sistema inmunológico local del útero en los días previos a la implantación?. En tanto estas preguntas son plenamente contestadas habrá que trabajar paralelamente en integrar el conocimiento disponible hasta el momento sobre la participación de la interleucina-1 (61), la interleucina 11R (62), el factor de crecimiento semejante a la insulina

(65), el factor de crecimiento epidermal (73), el factor inhibitorio de leucemia (91) y muchas otras citocinas caracterizadas en las tres especies de mamíferos de laboratorio abordadas en la presente revisión.

Por otra parte el uso de citocinas también incluye aplicaciones clínicas; principalmente con un enfoque hacia su uso en enfermedades como el cáncer cervico-uterino, en las que todavía queda mucho por conocer ya que su uso inadecuado puede alterar funciones biológicas del organismo e incluso la muerte.

Podemos concluir que el estudio de las citocinas y su participación en la implantación embrionaria, continuará siendo objeto de atención por mucho tiempo para los investigadores, ya que es un campo de la biología molecular de gran relevancia y en el caso del conejo ofrece nuevas líneas de investigación ya que el ratón y la rata han sido modelos más estudiados en este tema. Estos modelos animales experimentales contribuyen al estudio de la biología del desarrollo y a la comprensión de problemas de salud en los que en un futuro pueda existir la posibilidad de un tratamiento.

## XIV. GLOSARIO

IL-6: Interleucina-6

IL-1: Interleucina-1

TNF- $\alpha$ : Factor de necrosis tumoral  $\alpha$

GM-CSF: Factor estimulante de colonias macrófago-granulocitos

IGF: Factor de crecimiento insulínico

FGF2: Factor de crecimiento de fibroblastos 2

EGF: Factor de crecimiento epidermal

IL-3: Interleucina-3

IL-4: Interleucina-4

IL-5: Interleucina-5

IL-7: Interleucina-7

IL-9: Interleucina-9

IL-10: Interleucina-10

IL-11: Interleucina-11

IL-13: Interleucina-13

TGF $\beta$ : Factor de crecimiento transformante  $\beta$

LIF: Factor inhibidor de la leucemia

CSF-1: Factor estimulante de colonias 1

G-CSF: Factor estimulador de colonias granulocitos

HB-EGF: Factor de crecimiento similar al factor de crecimiento epidermal

Ar: Amphiregulina

BTC:  $\beta$ -celulina

Er: Epiregulina

CTGF: Factor de crecimiento de tejido conectivo

HGF: Factor de crecimiento de hepatocitos

IFN- $\gamma$ : Interferón  $\gamma$

NK: Asesinas Naturales

Ang-1: Angiopoyetina-1

Ang-2: Angiopoyetina-2

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular

TGF- $\alpha$ : Factor de crecimiento transformante- $\alpha$

PRL: Prolactina

## XV. LITERATURA CITADA

1. Viganó P., Mangioni S., Pompei F., Chiodo I. Maternal-conceptus Cross Talk-A Review. *Placenta*. 2003;24:S56-S61.
2. Barnea ER., Choi., YJ., Leavis PC. Embryo-maternal signaling prior to implantation. *Early Pregnancy*. 2000;3:166-175.
3. Alvarez RC, Hernández PM, Baiza GLA.: Las citocinas y los factores de crecimiento como reguladores autocrinos y paracrinos durante el periodo peri-implantacional. *Revisión Ginecología y Obstetricia de México. México*. 1999;67:85-93.
4. Kelly RW., King AE., Critchley OD. Cytokine control in human endometrium. *Reproduction*. 2001;121:3-19.
5. Sharkey A. Cytokines and implantation. *Reviews of Reproduction*. 1998;3:52-61.
6. Schafer-Somi S. Cytokines during early pregnancy of mammals: a review. *Animal Reproduction Science*. 2003;75:73-94.
7. Clough NC., Roth JA. *Understanding Immunology*. Mosby St Luis. 1998.
8. Hansen PJ . Regulation of uterine immune function by progesterone. *J. Reprod. Immunol*. 1998;40:63-79.
9. Salomonsen LA, Nie G, Findlay JK. Newly identified endometrial genes of importance for implantation. *J. Reprod. Immunol*. 2002;53:215-225.
10. Carson DD., Bagchi I., Dey SK., Enders AC., Fazleabas SA., Lessey BA., Yoshinaga K. Review: Embryo Implantation. *Developmental Biology*. 2000;223:217-137.

11. Gilbert SF. *Developmental Biology*. Sinauer Associates, INC publishers 1997.
12. Knobil E., Neill JD. *The Physiology of Reproduction*. Raven Press Ltd. 1994.
13. Psychoyos A. Uterine receptivity for implantation. *Ann N. Y. Acad. Sci.* 1986;476:36-42.
14. Alexander CM., Hansell EJ., Behrentsen O., Flannery ML., Kishnani NS., Hawkes SP., Werb Z. Expression and function of matrix metalloproteinases and their inhibitors at maternal-embryonic boundary during mouse embryo implantation. *Development*. 1996;122:1723:1736.
15. Cross JC., Werb Z., Fisher SJ. Implantation and the placenta: Key pieces of the development puzzle. *Science*. 1994;266:1508-1518.
16. Petraglia F., Santuz M., Florio P., Simoncini T., Luisi S., Plaino L., Genazzani AR., Genazzani AD., Volpe A. Paracrine regulation of human placenta: control of hormonogenesis. *J. Reprod. Immunol.* 1998;39:221-233.
17. Roberts RM., Ealy AD., Alexenko AP., Han CS., Ezashi T. Trophoblast interferons. *Placenta*. 1999;20:259-264.
18. García TF. *Fundamentos de inmunobiología*. México D.F. Universidad Nacional Autónoma de México. 1997.
19. Tizard IR. *Inmunología Veterinaria*. Mc Graw-Hill Interamericana 2002.
20. Moreno RJ. *Respuesta inmune y mecanismos de autoinmunidad*. México D.F. Noriega Editores. 1996.
21. Wu YD., Pampfer S., Becquet P. Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  Decreases the Viability of Mouse Blastocysts in Vitro and in Vivo. *Biol. Reprod.* 1999;60:479-483.

22. Hunt JS., Chen HL., Yang Y. Tumor necrosis factors: pivotal components of pregnancy. *Biol Reprod.* 1996;54:554-562
23. Pampfer S., Wu YD., Vanderheyden I. Expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) receptors and selective effect of TNF- $\alpha$  on the inner cell mass in mouse blastocyst. *Endocrinology.* 1994;134:206-212.
24. Gang-Cheng J., Chen JR., Hernández L. Dual control of LIF expression and LIF receptor function regulate Stat 3 activation at the onset of uterine receptivity and embryo implantation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2001;98(15):8680-8685.
25. Robertson SA., Roberts CT., Farr KL. Fertility impairment in Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor-Deficient Mice. *Biol. Reprod.* 1999;60:251-261.
26. Deb S., Tessier C., Prigent-Tessier A. The expression of Interleukin-6 (IL-6), IL-6 receptor, and gp130-kilodalton glycoprotein in the rat decidua and decidual cell line: Regulation by 17 $\beta$ -Estradiol and prolactin. *Endocrinology* 1999;10(140):4442-4450
27. Nichols J., Chambers I., Taga T. Physiological rationale for responsiveness of mouse embryonic stem cells to gp130 cytokines. *Development.* 2001;128:2333-2339.
28. Reese J., Binart N., Brown N. Implantation and Decidualization defects in prolactin receptor (PRLR)- deficient mice are mediated by ovarian but not uterine PRLR. *Endocrinology.* 2000;5(141):1872-1881.
29. Tscheuschilsuren G., Hombach-Klonisch S., Kuchenhoff A. Expression of the arylhydrocarbon receptor and the arylhydrocarbon receptor nuclear

- translocator during early gestation in the rabbit uterus. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1999;160:231-237.
30. Grundker C., Kirchner C. Influence of uterine growth factors on blastocyst expansion and trophoblast knob formation in the rabbit. *Early Pregnancy.* 1996;2:264-270.
31. Klonisch T., Wolf P., Hombach-Klonisch S. Epidermal growth factor-like ligands and erbB genes in the peri-implantation rabbit uterus and blastocyst. *Biol. Reprod.* 2001;64:1835-1844.
32. Norman R.J., Branstromm M. Cytokines in the ovary pathophysiology and potential for pharmacological intervention. *Pharmacol. Ther.* 1996;69:219-236.
33. Satyaswaroop PG. Human Endometrium: an active site of cytokine production and action. *Endocrine Reviews* 1991 ;12 (3):272-290.
34. ASRM Report. Assisted reproductive technology in the United States: 1996 results generated from the american society for reproductive medicine/society for assisted reproductive technology registry. *Fertil Steril.* 1999;71:798-807.
35. Nasu K., Narahara H., Matsui N., Kawano Y., Tanaka Y., Miyakawa I. Platelet-activating factor stimulates cytokine production by human endometrial stroma cells. *Mol Hum Reprod.* 1999;5:548-553.
36. Cunningham JM. Text book of veterinary physiology. W. B. Saunders Company 2002.
37. Hafez ES., Hafez B. Reproducción e inseminación artificial en animales. Mc Graw-Hill Interamericana 2000.

38. Paria BC, Lim H, Das SK, Reese J, Dey SK. Molecular signaling in uterine receptivity for implantation. *Cell & Developmental Biology*. 2000;11:67-76.
39. Tresguerres JA. *Fisiología Humana*. McGraw-hill Interamericana. 1999.
40. Chapman JA., Ceballos G. Reproductive and physiological cycles in the cottontail in Western Maryland and Nearby West Virginia. Supplement to the journal of wildlife managment. 1977;41:6-70.
41. Guraya S., Greenwald G. Histochemical studies on the interstitial gland in the rabbit ovary. *Am. J. Anat.* 1964;114:495-520.
42. Koering MJ., Sholl SA. The effects of prostalandin F2- $\alpha$  on the structure and function of the rabbit ovary. *Biol. Reprod.* 1973;9:226-245.
43. Koering MJ., Sholl Sa. Ovarian interstitial gland tissue and serum progesterin levels during the first preovulatory period in the mated rabbit. *Biol Reprod.* 1978;19:936-948.
44. Banks WJ., *Applied veterinary histology*. Mosby year book. 1993.
45. Dellman HD. *Citología e Histología*. Inter-Médica. 1999.
46. Young B., Health J. *Wheather's functional histology a text and colour atlas*. Churchill Livingstone. 2000.
47. Gartner LP., Hiatt JL. *Texto atlas de histología*. Mc Graw Hill-Interamericana. 2002.
48. Fawcett D., Jonsh RP. *Compendio de histología*. MC Graw-Hill Interamericana 1999.
49. Gilbert SF., Raunio AM. *Embryology*. Sinauer Associates, INC publishers 1997.

50. Climent S., Sarasa M., Domínguez L., Muniesa P., Terrado J. Manual de anatomía y embriología de los animales domésticos. Editorial Acribia, S.A. 1998.
51. Downs KM. Early Placental Ontogeny in the Mouse. *Placenta*. 2002;23:116-131.
52. Iwaki T., Sandoval-Cooper MJ., Paiva M., Kobayashi T., Poplis VA., Castellino FJ. Fibrinogen stabilizes placental-maternal attachment during embryonic development in the mouse. *Amer. J. Pathol.* 2002;160:1021-1034.
53. Georgidaes P., Ferguson-Smith Ac., Burton GJ. Comparative developmental anatomy of the murine and human definitive placentae. *Placenta*. 2002;23:3-19.
54. Kuby. *Immunology*. McGraw-Hill Interamericana. 2000.
55. Tizard IR. *Veterinary Immunology: an introduction*. McGraw-Hill Interamericana. 2000.
56. Abbas AK. *Inmunología Celular y Molecular*. McGraw-Hill Interamericana. 2001
57. Schijns VE., Horzinek MC. *Cytokines in veterinary medicine*. Cab International. 1997.
58. Roitt I. Brostoff., Male D. *Immunology*. McGraw-Hill Interamericana. 1993.
59. Kennedy TG., Ross HE. Temporal and hormone-dependent changes in uterine sensitization for the decidual cell reaction and decidualization *in vitro* of rat endometrial stromal cells. *J. Reprod. Fertil.* 1997;109:129-136.

60. Tremellen KP., Seamark RF., Robertson SA. Seminal transforming growth factor beta I stimulates granulocyte-macrophage colony-stimulating factor production and inflammatory cell recruitment in the murine uterus. *Biol Reprod.* 1996;58:1217-1225.
61. Simon C., Frances A., Piquete GN., Danasauri IE., Zurawski G. Dang WY., Poland ML. Embryonic implantation in mice is blocked by Interleukin-1 receptor antagonist. *Endocrinology.* 1994;134:521-528.
62. Bilinski P., Roopenian D., Gossier A. Maternal IL-11R $\alpha$  function is required for normal decidua and fetoplacental development in mice. *Endocrinology.* 1998;14(12):2234-2243.
63. Robertson SA., Mau VJ., Hudson SN., Tremellen KT. Cytokine-leukocyte networks and the establishment of pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 1997;37:438-442.
64. Díaz FM, Baiza GLA, Hicks JJ. Los nuevos moduladores endometriales en el embarazo temprano. *Revisión Gaceta Médica Mexicana.* México. 1999;132 (5):519-528.
65. Herrler A., Krusche CA., Beier HM. Insulin and Insulin-like growth factor-I promote rabbit blastocyst development and prevent apoptosis. *Biol Reprod.* 1998;59:1302-1310.
66. Robertson SA., Hudson SH., Seamark RF. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) targets myeloid leukocytes in the uterus during the post-mating inflammatory response in mice. *J Reprod Immunol.* 2000;46:131-154.

67. Robertson SA., Mau VJ., Young IG., Matthaei KL. The effect of interleukin-5 deficiency on uterine eosinophils and reproductive performance in mice. *J. Reprod. And Fertil.* 2000;120:423-432.
68. Nason KS., Binder ND., Labarta JI., Gargasky SE. IGF-II and IGF-binding proteins increase dramatically during rabbit pregnancy. *J Endocrinol.* 1996;148:121-130.
69. Chi MM., Schelein AI., Moley KH. High insuline like growth factor-I (IGF-I) and insulin concentrations trigger apoptosis in the mouse blastocyst via down-regulation of the igf-1 receptor. *Endocrinology.* 2000;141:4784-4792.
70. Shull MM., Doetschman T. Transforming growth factor- $\beta$  in reproduction development. *Mol. Reprod. Dev.* 1994;39:239-246.
71. Das SK., Tsukamura H., Paria BC., Andrews GK., Dey SK. Differential expression of epidermal growth factor receptor (EGF-R) gene and regulation of EGF-r bioactivity by progesterone and estrogen in the adult mouse uterus. *Endocrinology.* 1994;134:971-981.
72. Song H., Lim H., Das SK., Paria BC., Dey SK., Carson DD. Dysregulation of EGF family of growth factors and COX-2 in the uterus during the preattachment and attachment reactions of the blastocyst with the luminal epithelium correlates with implantation failure in LIF-deficient mice. *Molecular Endocrinology.* 2000;12:1147-1161.
73. Cai L., Zhang J., Duan E. Dynamic distribution of epidermal growth factor during mouse embryo peri-implantation. 2003;23:170-178.
74. Das SK., Das N., Wang J., Lim H., Schryver B., Plowman GD. Expression of betacellulin and epiregulin genes in the mouse uterus temporally by the

- blastocyst solely at the site of its apposition is coincident with the "window" of implantation. *Dev. Biol.* 1997;190:178-190.
75. Das SK., Chakraborty I., Paria BC., Wang XN., Plowman G., Dey SK. Amphiregulin is an implantation-specific and progesterone-regulated gene in the mouse uterus. *Mol. Endocrinol.* 1995;9:691-705.
76. Raab G., Kover K., Paria BC., Dey SK., Ezzel RM. Mouse preimplantation blastocysts adhere to cells expressing the transmembrane form of heparin-binding EGF-like growth factor. *Development.* 1996;122:637-645.
77. Lim H., Das SK., Dey SK. Erb B genes in the mouse uterus: cell-specific signaling by epidermal growth factor (EGF) family of growth factors during implantation. *Dev. Biol.* 1998;204:97-110.
78. Paria BC., Elenius K., Klagsbrun M., Dey SK. Heparin-binding EGF-like growth factor interacts with mouse blastocysts independently on ErbB1: a possible role for heparan sulfate proteoglycans and ErbB4 in blastocyst. *Implantation. Development.* 1999;126:1997-2005.
79. Surveyor GA., Wilson AK., Brigstock DR. CTGF in the mouse uterus and early embryo. *Biol. Reprod.* 1998;1207-1213.
80. Patel Y., Kim H., Rappolee DA. A role for hepatocyte growth factor during early postimplantation growth of the placental lineage in mice. *Biol. Reprod.* 2000;62;904-912.
81. Kurago ZB., Lutz CT., Smith KD., Colonna M. NK cell natural cytotoxicity and IFN-gamma production are not always coordinately regulated: engagement of DX9 KIR + NK cells by HLA-B/ variants and target cells. *J. Immunol.* 1998;160:1573-1580.

82. Boehm U., Klamp M., Howard JC. Cellular responses to interferon-gamma. *Annu. Rev. Immunol.* 1997;15:749-795.
83. Ashkar AA., Di Santo JP., Croy BA. Interferon  $\gamma$  contributes initiation of uterine vascular modification, decidual integrity, and uterine natural killer cell maturation during normal murine pregnancy. *J. Exp. Med.* 2000;192:259-269.
84. Wang C., Umesaki N., Nakamura H., Tanaka T., Nakatani K., Sakaguchi I., Ogita S., Kaneda K. Expression of vascular endothelial growth factor by granulated metrial gland cells in pregnant murine uteri. *Cell. Tissue Res.* 2000;300:285-293.
85. Ashkar AA., Anne B. Functions of uterine natural killer cells are mediated by interferon gamma production during murine pregnancy. *Seminars in Immunology.* 2001;13:235-241.
86. Croy BA., Hans't the time come to replace the term metrial gland? *J Reprod Immunol.*1999;42:127-129.
87. Olson GE., Winfrey VP., Matrisian PE., Melner MH. Specific expression of haptoglobin mRNA in implantation -stage rabbit uterine epithelium. *J. Endocrinol.* 1997;152:69-80.
88. Dvorak P., Flechon JE., Thompson EM., Horak V., Adenot P., Renard JP. Embryoglycans regulate FGF-2 mediated mesoderm induction in the rabbit embryo. *J. Cell Science.* 1997;110:1101-1110.
89. Bréard E., Benhaim A., Féral C., Leymarie P. Role of IL-6 in rabbit ovary. *J. Endocrinol.* 1998;159:479-487.
90. Chen JR., Gang-Cheng J., Shatzer T. Leukemia inhibitory factor can substitute for nidatiry estrogen and is essential to inducing a receptive

uterus for implantation but is not essential for subsequent embryogenesis. *Endocrinology*. 2000;12(121):4365-4372.

91. Vogiagis D., Salomonsen LA. Review: the role of leukaemia inhibitory factor in the establishment of pregnancy. *J. Endocrinol.* 1999;160:181-190.
92. Liu CQ., Yuan Y., Wang ZX. Effects of leukaemia inhibitory factor on endometrial receptivity and its hormonal regulation in rabbits. *Cell. Biol. Internat.* 2001;25:1029-1032.
93. Tan J., Paria BC., Dey SK., Das SK. Differential uterine expression of estrogen and progesterone receptors correlates with uterine preparation for implantation and decidualization in the mouse. *Endocrinology*. 1999;140:5310-5321.
94. Ray P., Ghosh SK., Zhang DH., Ray A. Repression of interleukin-6 gene expression by 17 $\beta$ -estradiol inhibition of the DNA-binding activity of the transcription factor NF-IL-6 and NF- $\alpha\beta$  by the estrogen receptor. *FEBS Lett.* 1997;409:79-85.
95. Jones SR., Kimler BF., Justice WM., Ryder V. Transit of normal rat uterine stromal cells through G1 phase of the cell cycle requires progesterone-growth factor interactions. *Endocrinology*. 2000;141:637-648.
96. Ledee-Bataille N., Lapree-Delage G., Taupin JL., Dubanchet S., Taieb J., Moreau JF. Follicular fluid concentration of leukaemia inhibitory factor is decreased among women with polycystic ovarian syndrome during assisted reproduction cycles. *Human Reproduction*. 2001;10:2073-2078.
97. Branisteanu I. Pijnenborg R. Spiessens C. Detection of immunoreactive interleukin-11 in human follicular fluid: correlations with ovarian steroid,

- insulin-like growth factor I concentrations and follicular maturity. *Fertil. Steril.* 1997;67:1054-1058.
98. Spacynski RZ., Arici A., Duleba AJ. Tumor necrosis factor  $\alpha$  stimulates proliferation of rat ovarian theca-interstitial cells. *Biol Reprod.* 1999;61:993-998.
99. Stasko SA., Dimattia GE., Wagner GF. Dynamic changes in stanniocalcin gene expression in the mouse uterus during early implantation. *Molecular and Cellular Endocrinol.* 2001;174:145-149.
100. Deol HK., Varghese R., Wagner GF., Dimattia GE. Dynamic regulation of mouse ovarian stanniocalcin expression during gestation and lactation. *Endocrinology.* 2000;141:3412-3421.
101. Varghese R., Wong CK., Deol H., Wagner GF., Dimatti GE. Characterization of the human and mouse stanniocalcin genes. *Endocrinology.* 1998;139:4714-4725.
102. Pastoret PP., Griebel P., Bazin H., Govaerts A. *Handbook of vertebrate immunology.* Academic Press. 1998.
103. Saito S. Cytokine network at the feto-maternal interface. *J. Reprod. immunol.* 2000;47:87-103.
104. Gutiérrez M., Tejada M., Aguilar E. Citocinas ¿La terapéutica del futuro?. *Revista médica del hospital general de México.* S.S. 1998;61:97-102.
105. Hayashi S., Sakamoto T. Estrogen and growth factor signaling pathway: basic approaches for clinical application. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 2003;86:433-442.

106. Holland CM., Day k. Expression of the VEGF and angiopoietin genes in endometrial atypical hyperplasia and endometrial cancer. *Br J Cancer.* 2003;89:891-898.
107. Sikorski M., Zrubek H. Long-term follow-up of patients treated with recombinant human interferon gamma for cervical intraepithelial neoplasia. *Int. J. Gynaecol. Obst.* 2003;82:179-185.
108. Simon C., Dominguez F., Remohi J. Embryo effects in human implantation: embryonic regulation of endometrial molecules in human implantation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2001;943:1-16.
109. Robertson SA., Sharkey D. The role of semen in induction of maternal immune tolerance to pregnancy. *Seminars in immunology.* 2001;13:243-254.
110. Robertson SA., Ingman WV., O'Leary S., Sharkey DJ., Tremellen KP. Transforming growth factor beta a mediator of immune deviation in seminal plasma. *J. Reprod. Immunol.* 2002;57:109-128.
111. Ingman WV., Robertson SA. Defining the actions of transforming growth factor beta in reproduction. *Bioessays.* 2002;24:904-914.
112. Sengupta J, Ghosh D. Blastocyst-endometrium interaction at implantation in the rhesus monkey. *J. Reprod. Immunol.* 2002;53:227-239.
113. Robb L., Li R., Hartley L. Infertility in female mice lacking the receptor for interleukin 11 is due to a defective uterine response to implantation. *Nature Med.* 1997;4:303-308.
114. Sjoblom C., Wikland M., Robertson SA. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) acts independently of the beta common subunit of

the GM-CSF receptor to prevent inner cells mass apoptosis in human embryos. Biol. Reprod. 2002;67:1817-1823.

115. Jasper MJ., Robertson SA., Van der hoeck KH., Bonello N., Branstorm M., Norman RJ. Characterization of ovarian function in granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) deficient mice. Biol. Reprod. 2000;62:704-713.

116. Tanir HM., Ozalp S., Yalcin OT., Colak O., Akcay A., Senses Y. Preoperative serum vascular endothelial growth factor (VEGF) in ovarian masses. Eur. J. Gynaecol. Oncol. 2003;24:271-274.

117. Ben-Yair E., Less A., Lev S. Tumor necrosis factor- $\alpha$  binding to human and mouse trophoblasts. Cytokine. 1997;9:830-836.

118. Wu YD., Pampfer S. Vanderheyden I. Impact of tumor necrosis factor- $\alpha$  on mouse embryonic stem cells. Biol. Reprod. 1998;58:1416-1424.

119. Munno I., Chiechi LM., Lacerdia G. Evaluation of nonspecific immunity and plasma levels of interferon-gamma, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha in preeclampsia. Immunopharmacol Immunotoxicol. 1999;21:551-564.

120. Zhou, Y., Genbacev, O., Fisher, S.J. The human placenta remodels the uterus by using a combination of molecules that govern vasculogenesis or leukocyte extravasation. Ann N Y Acad Sci. 2003: 995: 73-83.

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
 DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
 EXAMENES PROFESIONALES



CIUDAD UNIVERSITARIA, D.F. MARZO 16 DE 2004.

A LOS MIEMBROS DEL JURADO  
 PRESENTE

POR SER USTED INTEGRANTE DEL JURADO DEL EXAMEN PROFESIONAL DEL ALUMNO (A)  
 BETANCOURT ALONSO MIGUEL ANGEL

SOLICITO, ATENTAMENTE LE REVISE EL TRABAJO DE TESIS, PARA QUE AGREGUE SUS PUNTOS DE VISTA O LE DÉ SU APROBACIÓN SIN MODIFICACIONES, EN UN PLAZO MENOR DE 3 DÍAS NI MAYOR DE 20. (ARTÍCULO 15, REGLAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES, FMVZ).

	MODIFICACIONES	
	CON ( )	SIN (X)
PRESIDENTE <u>MVZ EDUARDO TENA BETANCOURT</u>	<u>[Firma]</u>	<u>23/03/04</u>
<u>[Firma]</u> 16/03/04	FIRMA Y FECHA DE RECEPCION	
VOCAL <u>MVZ CARLOS ESQUIVEL LACROIX</u>	<u>[Firma]</u>	<u>[Firma]</u>
<u>[Firma]</u> 16/03/04	FIRMA Y FECHA DE RECEPCION	
SECRETARIO <u>MVZ JORGE HERNANDEZ ESPINOSA</u>	<u>[Firma]</u>	<u>26 MARZO 04</u>
<u>[Firma]</u> 16 marzo 04	FIRMA Y FECHA DE RECEPCION	
SUPLENTE <u>MVZ HECTOR VILLASEÑOR GAONA</u>	<u>[Firma]</u>	<u>22 MARZO 04</u>
<u>[Firma]</u> 16 marzo 04	FIRMA Y FECHA DE RECEPCION	
SUPLENTE <u>MVZ MARIO PEREZ MARTINEZ</u>	<u>[Firma]</u>	<u>22-Marzo-04</u>
<u>[Firma]</u> 16 marzo 04	FIRMA Y FECHA DE RECEPCION	

TITULO DEL TEMA:  
 LAS CITOCINAS Y SU RELEVANCIA EN LA IMPLANTACION EMBRIONARIA EN TRES ESPECIES DE MAMIFEROS  
 DE LABORATORIO (*Oryctolagus cuniculus*, *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*): ESTUDIO RECAPITULATIVO

MVZ. MARIO PEREZ MARTINEZ  
 MVZ. FERNANDO IVAN FLORES PEREZ

APROBACIÓN FINAL DEL ASESOR:  
[Firma]

ATENTAMENTE  
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
 JEFE DE LA DIVISION  
[Firma]  
 MVZ. ALFONSO BAÑOS CRÉSPO

Recibí  
 Belina  
 20/03/04 acs.