

	Pág.
ASPECTOS GENERALES .....	91
FASES .....	91
Ruptura de la zona pelúcida .....	92
Precontacto y orientación del blastocisto .....	93
Aposición .....	94
Adhesión .....	94
Invasión .....	95
TRANSICIÓN DEL ENDOMETRIO NO RECEPTIVO A RECEPTIVO .....	96
EVALUACIÓN CLÍNICA DE LA RECEPTIVIDAD UTERINA .....	97
EFFECTOS ENDOMETRIALES DE LA HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA .....	98
REQUERIMIENTOS HORMONALES PARA LA PREPARACIÓN ENDOMETRIAL .....	98
GONADOTROPINA CORIÓNIC HUMAN .....	98
BIOMARCADORES DE RECEPTIVIDAD UTERINA .....	99
Pinópodos .....	99
Integrinas .....	100
MUC1 .....	100
Complejo trophin-tastin .....	101
Citocinas .....	102
Factor inhibidor de leucemia .....	102
Interleucina 1 .....	102
Factor estimulante de colonia tipo 1 .....	102
OTROS POSIBLES MARCADORES DE RECEPTIVIDAD UTERINA .....	103
Calcitonina .....	103
Genes Hox .....	103
BIOMARCADORES DE RECEPTIVIDAD UTERINA E INFERTILIDAD .....	104
RESUMEN .....	104
REFERENCIAS .....	105





## ASPECTOS GENERALES

La implantación embrionaria se define como el proceso mediante el cual el embrión se ancla en el endometrio, con el objetivo de que, a través de la placenta, pueda tener la oxigenación y los nutrientes necesarios para su protección, crecimiento y maduración.

Los eventos iniciales que ocurren entre el trofoblasto y el endometrio uterino materno han sido motivo de muchos estudios, que permiten poner de manifiesto la diversidad en las estrategias de implantación y placentación de las especies; así como el descubrimiento de la sincronía que debe existir entre los mecanismos fisiológicos, hormonales, celulares, moleculares y genéticos que permiten la interacción entre el embrión y el endometrio, para formar la unidad fetoplacentaria.

Para que ocurra el desarrollo del embrión desde su estado de preimplantación hasta el de blastocisto es necesario que se active su genoma, lo que se produce en los humanos cuando el embrión tiene 4 a 8 células (Artley et al., 1992).

Una vez que el genoma es activado, el embrión comienza a crecer rápidamente para formar el blastocisto, el cual consta de tres capas cuando está totalmente expandido: la más externa de trofoectodermo epitelial polarizado, el endodermo primitivo y la masa de células internas (MCI) pluripotencial.

La ventana de implantación es el período en el cual el endometrio se hace receptivo al embrión, éste varía según la especie; en los humanos se corresponde con la fase media secretora del ciclo menstrual, tiene una duración de 5 días y comienza el día 20 en mujeres con ciclos menstruales regulares de 28 días de duración. Si se toma como relación el pico de hormona luteinizante (LH), éste sería el día LH 0 y el período de receptividad uterina estaría comprendido entre los días 7 y 11 (LH +7 y LH +11), posterior al pico de LH (Aplin, 1997).

Durante este lapso el endometrio sufre una serie de modificaciones morfológicas, que obedecen a los cambios hormonales, y además expresa una serie de péptidos y proteínas que pueden ser utilizados como biomarcadores de receptividad uterina (Lessey, 2000).

La disparidad entre la ventana de implantación y la transferencia de embriones por técnicas de reproducción asistida (TRA) podrían ser un factor limitante para lograr el embarazo (Edwards, 1995; Herrler et al., 2003).

Durante la implantación ocurren una serie de eventos interrelacionados que tienen como objetivo establecer el intercambio de oxígeno y nutrientes entre el embrión y el útero. Esto no debe pasar del día 7-8 luego de la fertilización porque el embrión agota los nutrientes de su interior y los que le suministra el tracto genital femenino no son suficientes para su supervivencia. El comienzo lógico de este intercambio comienza con la salida del embrión de su zona pelúcida, proceso denominado eclosión, y no se sabe con exactitud cuándo finaliza, porque la placenta mantiene esta función mientras el feto está en crecimiento.

A pesar de los avances en las TRA, la implantación todavía es un proceso poco estudiado y muy delicado, que con frecuencia no es exitoso, como se aprecia al evaluar todas las concepciones desde antes que haya retraso menstrual: el 65% de las concepciones terminan en pérdidas no reconocidas y de éstas, 45% son porque ocurre la aposición del blastocisto pero no la invasión trofoblástica; 30% terminan por fallo de implantación; y 25% por alteraciones después de la implantación (Wilcox et al., 1999).

## FASES

La fertilización normal en los humanos ocurre en la región ampular de la trompa de Falopio en las primeras 24 horas de la relación sexual fecundante. Aunque en los humanos el deseo sexual no tiene nada que ver con la ovulación, en casi todos los mamíferos el período de máxima receptividad sexual de la hembra, ocurre antes de la ovulación, de tal manera que los espermatozoides suelen estar presentes en la trompa antes de la llegada del óvulo.

Entre los días 1 y 4 el embrión atraviesa el oviducto y llega al útero el día 4-5. Luego el blastocisto pasa de 2 a 3 días dentro del endometrio sin adherirse, durante los cuales sufre el proceso de eclosión, hasta que ocurre la invasión del trofoblasto el día 7 u 8 luego de la fertilización (fig. 4-1). En los siguientes 275 días ocurre el desarrollo del embrión, la formación del feto y su maduración hasta el momento del nacimiento (Diaz et al., 1980).

Debido a los problemas éticos de los estudios en humanos, los investigadores se han basado en la comparación de los modelos de implantación de diferentes especies, para definir las siguientes fases de este proceso (Guillomont et al., 1993; Guillomont et al., 1995; Spencer et al., 2004).

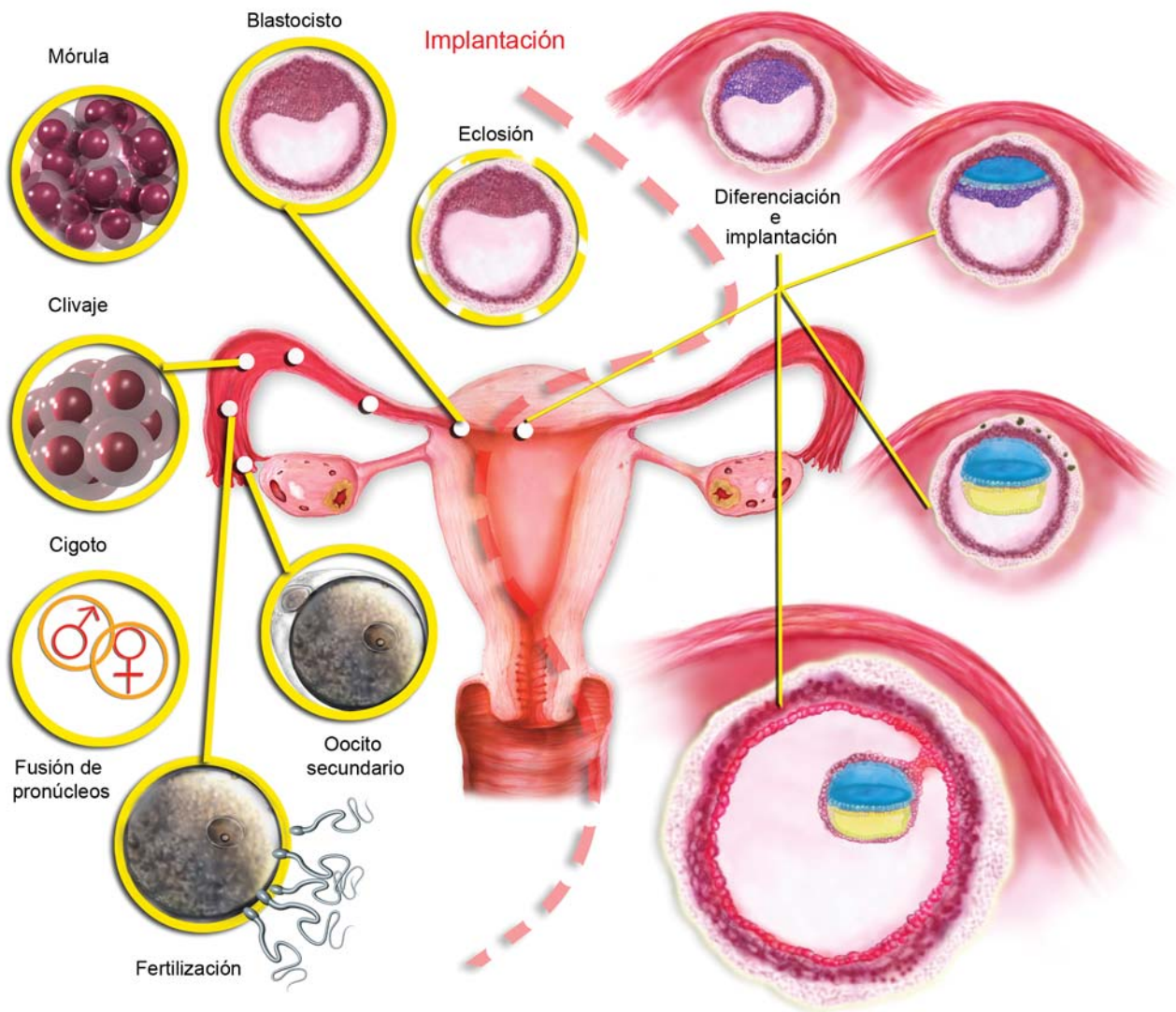


Figura 4-1.  
Fertilización e implantación embrionaria.

### Ruptura de la zona pelúcida

Durante su paso por la trompa, el embrión está en etapa de mórula (fig. 4-2) y unos 4 días después que ha ocurrido la fecundación, el embrión entra al útero desde el oviducto en estado de mórula con 16 a 32 células.

Para el día 5 se forma el blastocisto (fig. 4-3), constituido por una masa celular interna, que es el precursor de todos los tejidos fetales, y una masa celular externa conocida como trofoectodermo o trofoblasto, responsable de posicionar y anclar el embrión en el endometrio y que, en combinación con el mesénquima extraembrionario, dará origen a la placenta.

Entre los días 5 y 6 ocurre la eclosión, que consiste en la salida del contenido celular al exterior. Esto sucede porque el crecimiento celular se ha hecho a expen-

sas del número de células y no de su tamaño; sin embargo, el contenido celular es tan grande que no cabe dentro del blastocisto y tiene que salir al exterior de manera similar a como lo hace un ovíparo de su cáscara (fig. 4-4).

La eclosión ocurre por la acción de tres fuerzas: la degradación por la acción de enzimas de la superficie del blastocisto, la digestión enzimática por secreciones uterinas y la expansión y contracción del blastocisto (fig. 4-5).

En el día 8 el blastocisto es esférico, mide 200  $\mu\text{m}$  de diámetro y contiene aproximadamente 300 células, pero ya para el día 10 mide entre 400 y 900  $\mu\text{m}$  de diámetro y contiene aproximadamente 3.000 células. Des-



pués de este día comienza su elongación y se desarrolla el *conceptus*, que es como se denomina al conjunto formado por el embrión/feto y las membranas

extraembrionarias, en forma de estructura tubular que luego se hace filamentosa (Wintenberger-Torres and Flechon, 1974).

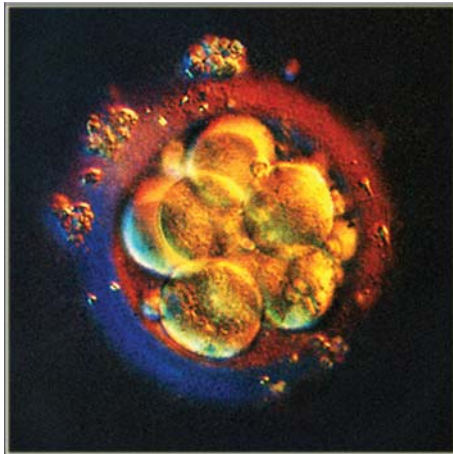


Figura 4-2. Mórula.

Tomado de Lennart Nilsson. *The Miracle of Life*, 1990.

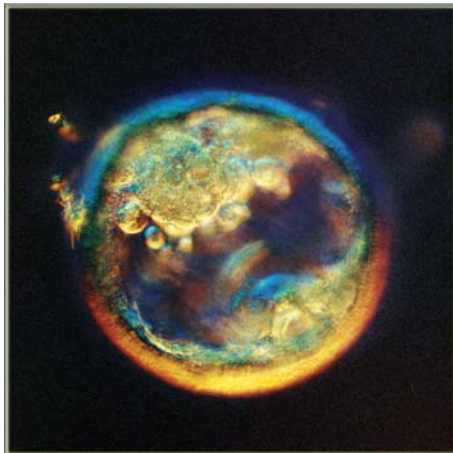


Figura 4-3. Blastocisto.

Tomado de Lennart Nilsson. *The Miracle of Life*, 1990.

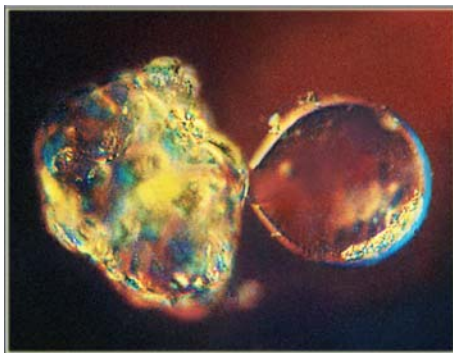


Figura 4-4. Eclosión del blastocisto.

Tomado de Lennart Nilsson. *The Miracle of Life*, 1990.

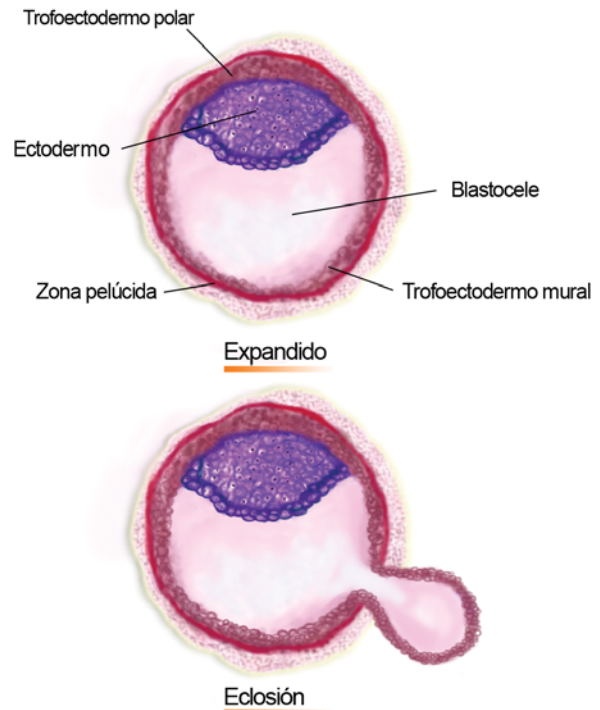


Figura 4-5.  
Proceso de eclosión.

### Precontacto y orientación del blastocisto

Entre los días 5 y 8 no existe un contacto definitivo entre el trofoectodermo embrionario y el epitelio endometrial, sino que el blastocisto toma posición, permanece inmóvil y se orienta con el polo embrionario, que es el más cercano a la MCI, hacia el endometrio (Aplín, 2000), lo que permite la adecuada placentación; de allí la importancia de esta fase (fig. 4-6).

Este período en el que el embrión no ha invadido el epitelio endometrial y permanece inmóvil dentro de la cavidad uterina ha sido utilizado, sobre todo en animales, para la recolección del embrión sin causarle daño estructural, mediante lavado con medios de cultivo (Spencer et al., 2004; Simón y col., 2002). A partir del día 9, el blastocisto esférico o discretamente tubular se comienza a elongar hasta que el día 17 llega a 25 mm de longitud y se observa como un largo filamento compuesto predominantemente de trofoblasto extraembrionario. Durante este período, el *conceptus* primero se sitúa hacia el cuerno uterino, ipsilateral al cuerpo lúteo y se va alargando hacia el otro lado para, cerca del día 17, ocupar más de la mitad de la distancia entre los dos cuernos, cuando se trata de un emba-



razo simple. Los blastocistos eclosionados y las vesículas trofoblásticas nos son capaces de alargarse in vitro, hasta que no se transfieren al útero (Flechon et al., 1986).



Figura 4-6.  
Precontacto y orientación del embrión.

Tomado de Lennart Nilsson. *The Miracle of Life*, 1990.

La elongación del blastocisto es de gran importancia para la producción regulada de interferón tau, un interferón tipo I, que es una señal para el adecuado reconocimiento del embrión por la madre y actúa de manera paracrina en el epitelio endometrial para inhibir el desarrollo de los mecanismos luteolíticos que ocasionarían la atrofia del cuerpo lúteo y la menstruación (Bazer, 1992).

### Aposición

La fase de aposición implica la estrecha asociación del blastocisto con el epitelio luminal endometrial y en humanos ocurre, con mayor frecuencia, en el tercio superior de la pared posterior del útero (fig. 4-7). Al principio esta asociación ocurre con la MCI y luego se expande al resto del blastocisto. A medida que ocurren más embarazos, la aposición puede ocurrir en la parte inferior del útero, de allí que la placenta previa sea más común a medida que aumenta la paridad.

Se ha observado una íntima relación entre las membranas apicales de ambos tipos celulares, que en algunas especies, se acompañan de la reducción de las microvellosidades que cubren el trofoectodermo y de aumento de la permeabilidad de los capilares uterinos (Guillomot et al., 1993).

Durante este período existen las siguientes condiciones que facilitan el contacto del embrión con el epitelio luminal del endometrio (Queenan and Falseabas, 1997):

- El líquido intrauterino es absorbido para que la cavidad se colapse y las paredes de adhieran al blastocisto.
- Ocurre el pico de mayor edema del estroma uterino.
- Hay una rápida proliferación y expansión del blastocisto, cuando se encuentra alojado en las criptas endometriales, lo que favorece el contacto con el estroma endometrial.
- Las células del trofoectodermo se fusionan y forman el sincitio, o se agregan unas sobre otras para formar columnas celulares que se adhieren al útero.
- Los vasos sanguíneos subendometriales se desplazan hacia la superficie para facilitar el intercambio de oxígeno y nutrientes.



Figura 4-7.  
Fase de aposición.

Tomado de Lennart Nilsson. *The Miracle of Life*, 1990.

### Adhesión

Comprende el anclaje firme del trofoblasto en el epitelio luminal endometrial, el cual, bajo condiciones hormonales específicas, se transforma de un estado no



receptivo en uno receptivo. Una vez que concluye esta fase el embrión no puede ser recuperado mediante el lavado de la cavidad uterina (fig. 4-8).

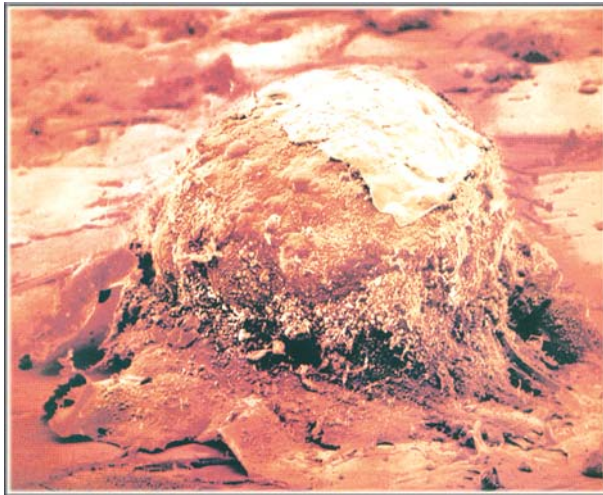


Figura 4-8.  
Fase de adhesión.

Tomado de: Lennart Nilsson. *The Miracle of Life*, 1990.

La superficie endometrial está cubierta por una delgada capa de glicoproteínas con carga negativa, llamada gliocócalix, que disminuye su negatividad y grosor inmediatamente antes que ocurra la implantación, para facilitar la invasión del blastocisto en la superficie endometrial.

El trofoblasto contiene células gigantes binucleadas (CGB), que cumplen al menos dos funciones principales (Spencer et al., 2004):

- Formar el sincitio del híbrido materno-fetal para una adecuada implantación y placentación.
- Sintetizar y secretar proteínas y hormonas esteroideas, como el lactógeno placentario y la progesterona, que regulan la fisiología materna.

Estas CGB se diferencian en células madre mononucleares, por consecutivas divisiones nucleares sin citocinesis, migran hasta la porción apical del trofoblasto, a través de las delgadas uniones del corion, y se aplanan para iniciar la adhesión a la superficie apical del epitelio endometrial. Las CGB se fusionan con las células endometriales y, en el lugar en el que se formará la placenta, forman un sincitio de células trinucleares (Wooding, 1992).

Como se analiza más adelante en este capítulo, durante este proceso se encuentran implicadas una

serie de biomoléculas denominadas moléculas celulares de adhesión.

### Invasión

Este proceso ocurre en el día 8 y requiere la penetración del trofoblasto en la membrana basal del endometrio, seguido de la decidualización del estroma subyacente. Este proceso culmina con la penetración de las arterias espirales maternas dentro del útero (fig. 4-9).

La invasión requiere la interacción de las células del trofoblasto y la matriz extracelular y se caracteriza por ser un proceso que responde a la acción de enzimas, debido a que las células del citotrofoblasto invaden el endometrio materno como consecuencia de su capacidad de secretar metaloproteinasas, que son enzimas endopeptidasas dependientes de zinc, que degradan los componentes de la matriz extracelular durante la implantación y el desarrollo temprano del embrión (Bischof et al., 2000).

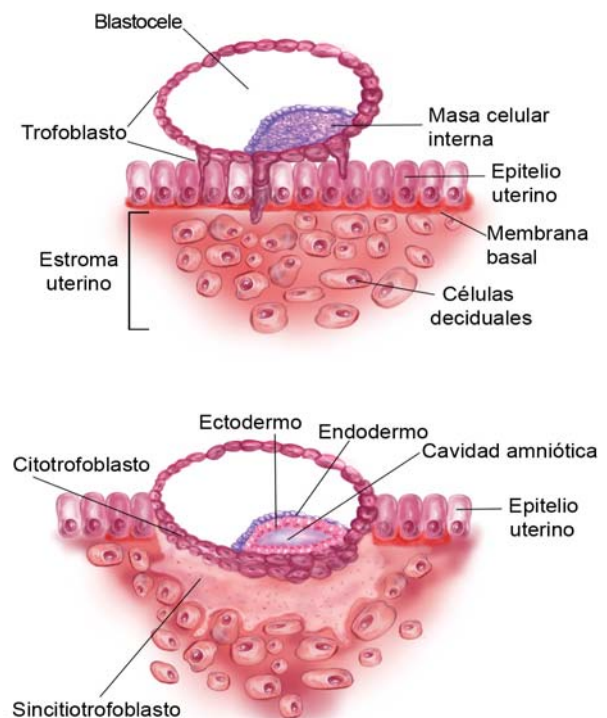


Figura 4-9.  
Fase de invasión.

Este proceso es paradójico y ocurre muy rápidamente como si no tuviera control, en un principio las células del trofoblasto invaden el útero formando columnas, para luego hacerlo en forma dispersa e individualmente. Este tejido ha sido denominado trofoblasto intermedio y sus células tienen la capacidad de atra-



vesar el tercio interno del miometrio sin causar hemorragia, necrosis o trombosis (Aplin, 1991).

La invasión trofoblástica ha sido comparada con un carcinoma metastático porque sus células tienen las siguientes características (Liotta et al., 1986):

- Atacan las proteínas de la matriz extracelular.
- Segregan proteasas capaces de degradar esas proteínas.
- Migran a través del estroma y la matriz extracelular degradada.

El único tejido capaz de modular la invasión trofoblástica es la decidua, que es su sitio de implantación natural. Se ha señalado que si el blastocisto es transplantado a sitios ectópicos, ocurre la implantación sin resistencia e independiente de cualquier estimulación hormonal (Queenan and Falseabas, 1997).

## TRANSICIÓN DEL ENDOMETRIO NO RECEPTIVO A RECEPTIVO

Durante el ciclo menstrual el endometrio experimenta tres fases: folicular, secretora y menstrual (fig. 4-10). La fase folicular, o proliferativa, se inicia con el término de la fase menstrual, está bajo la influencia de los estrógenos y ocurre simultáneamente con el crecimiento folicular.

La fase secretora, progestacional o luteínica, se inicia el día 2 o 3 luego de la ovulación, como consecuencia del incremento en los niveles de progesterona producida por el cuerpo lúteo que colabora de forma activa con la implantación embrionaria y contribuye con la formación de la placenta. Finalmente, si no ocurre la fecundación, comienza el desprendimiento de las capas más superficiales del endometrio y se da inicio a la fase menstrual (Sadler, 2002).

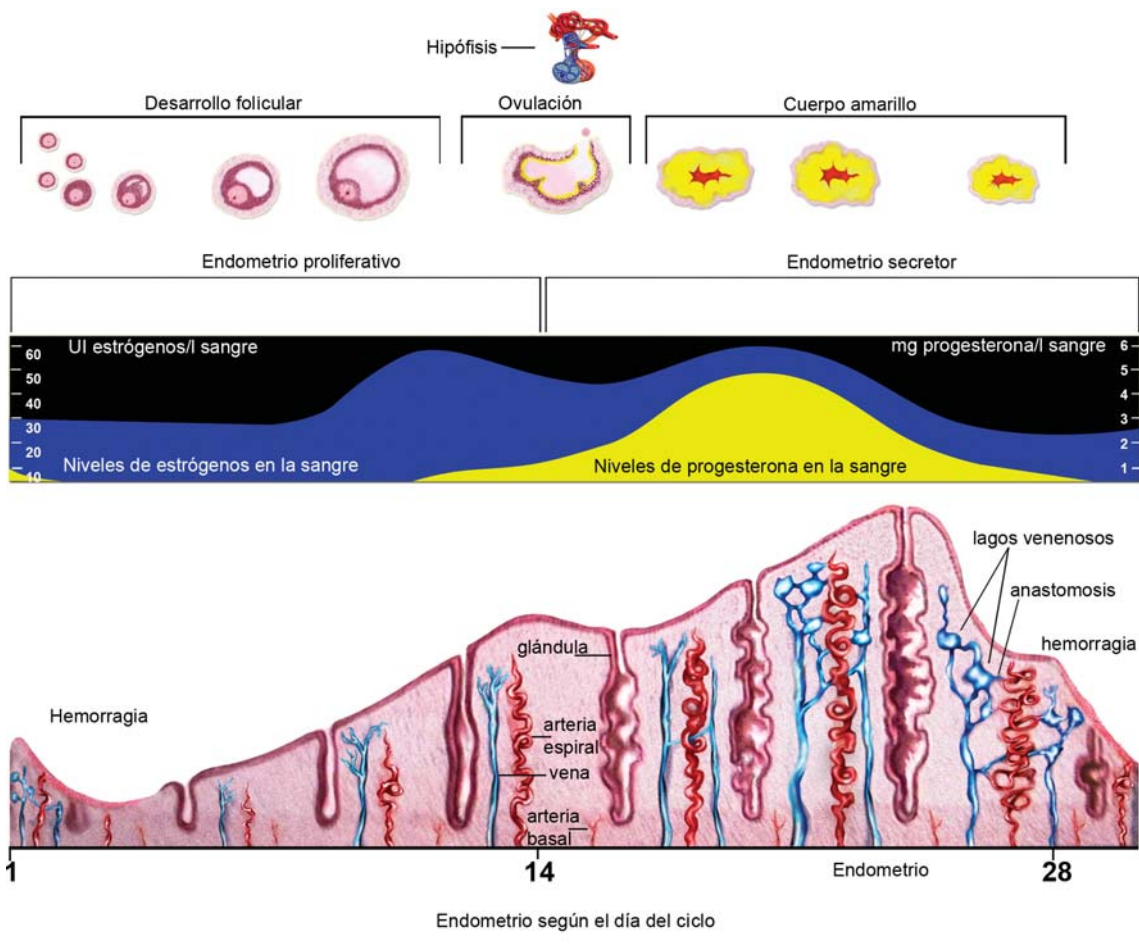


Figura 4-10. Cambios endometriales durante el ciclo menstrual.





El endometrio está tapizado por una capa única de células epiteliales cuboideas polarizadas, que es el epitelio endometrial, cuya función es la de proteger el tracto reproductor porque actúa como barrera al impedir la penetración de gérmenes patógenos hacia el interior del endometrio. Además, tiene un papel fundamental en el proceso de implantación embrionaria porque, durante este período, experimenta una serie de modificaciones como consecuencia de los cambios hormonales (Simón y col., 2002).

Después de la ovulación, cuando el folículo dominante colapsa para transformarse en cuerpo lúteo e iniciar la producción de progesterona, el endometrio pasa de un estado proliferativo, no receptivo al embrión, a un estado secretor, receptivo, cuya morfología se caracteriza por presentar un aumento del espesor como consecuencia del edema del estroma; aumento de la actividad secretora de las glándulas y aumento en la longitud de las arterias espirales, que se hacen más tortuosas hasta alcanzar la porción superficial del endometrio. Toda esta serie de modificaciones permiten que el endometrio se prepare para recibir al embrión e iniciar la implantación (Fawcett, 1989).

Las especies que presentan el modelo de placentación hemocorial, como los humanos, los ratones y las ratas, se caracterizan por que las células fetales del trofoblasto y los leucocitos de la sangre y los tejidos maternos están íntimamente unidos. Los leucocitos uterinos pueden atacar las células fetales implantadas, porque el embrión no es genéticamente idéntico a la madre; sin embargo, durante el embarazo, a pesar de esta disparidad genética, la capacidad de los leucocitos de destruir cualquier agente foráneo es modificada. Este evento es el mecanismo de tolerancia inmunológica más fascinante jamás descrito (ver cap. 13).

En la medida en que el endometrio adquiere su receptividad, el embrión adquiere su invasividad, de hecho el blastocisto generalmente se implanta durante la fase lútea media del ciclo menstrual.

Después que han transcurrido 15 días de la ovulación, se forma la decidua y la mayoría del estroma endometrial se convierte en un cúmulo de células epiteliales. La decidua consta de tres capas: compacta, esponjosa y basal; las dos últimas descaman con la menstruación cuando no ocurre la implantación y la primera representa la línea basal, de donde se regeneran las capas del endometrio del ciclo siguiente.

La porción de la decidua que está inmediatamente por debajo del sitio de implantación se denomina

decidua basal y se encuentra invadida por trofoblastos que forman una línea de degeneración fibrinoide, llamada capa de Nitabuch. Esta capa limita la penetración del trofoblasto y se ha señalado que está ausente en los casos de placenta ácreta, cuando se rompe la integridad de la decidua (Queenan and Falseabas, 1997).

## EVALUACIÓN CLÍNICA DE LA RECEPTIVIDAD UTERINA

Durante los pasados 50 años el proceso de implantación se comenzó a estudiar basándose en los cambios morfológicos observados por Noyes en biopsias de endometrio (Noyes et al., 1950).

A pesar de los grandes avances tecnológicos, la valoración del endometrio ha sido más útil para predecir el momento en que no es receptivo al embrión. La biopsia de endometrio es el método ideal para determinar las características del endometrio durante la fase secretora del ciclo menstrual. Sin embargo, no se puede utilizar en los ciclos de FIV-TE para conocer el momento ideal de la transferencia de embriones.

El método más usado para evaluar el endometrio es el ultrasonido transvaginal, que tiene la ventaja de ser rápido, no invasivo y permite establecer la asociación entre el crecimiento folicular y el endometrial. Se ha señalado que lo ideal es que el endometrio sea trilaminar y con un grosor mayor de 6-8 mm, para el momento en que ocurre la ovulación o antes de colocar la HCG, para realizar la aspiración folicular en una FIV-TE. Luego de la ovulación, el endometrio se pone denso e hiperecoico y se mantiene así hasta que ocurre la implantación o la menstruación (fig. 4-11).

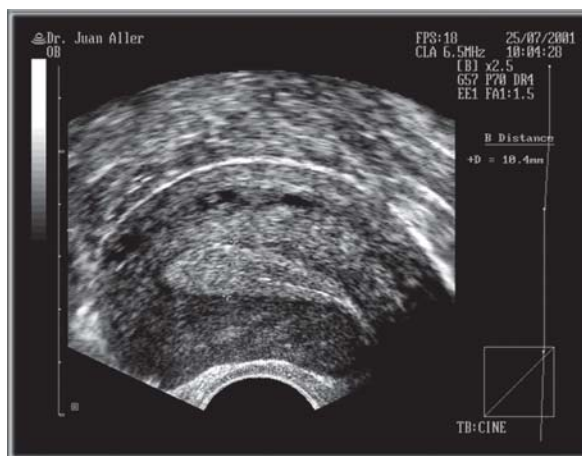


Figura 4-11.  
Ultrasonido de un endometrio secretor.



También se ha usado el efecto Doppler para evaluar el flujo sanguíneo de las arterias uterinas y establecer patrones de pronóstico para la implantación embrionaria; sin embargo, son necesarios más estudios para que sea utilizado rutinariamente (ver cap. 14).

Existen una serie de moléculas y estructuras microscópicas que, como se señala más adelante, puede que en el futuro sean utilizadas como biomarcadores de receptividad uterina en todas las pacientes que ameriten tratamientos de RA.

### **EFFECTOS ENDOMETRIALES DE LA HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA**

En los últimos años ha aumentado cada vez más el número de parejas que necesitan tratamientos de RA y una de las herramientas fundamentales que han permitido mejorar las tasas de nacidos vivos es la hiperestimulación ovárica controlada (HOC), que consiste en la administración de medicamentos inductores de la ovulación con el fin de obtener una mayor cantidad de óvulos de buena calidad y eventualmente embriones que se puedan implantar.

Los niveles séricos elevados de gonadotropinas y esteroides ováricos, así como el uso de agonistas o antagonistas de la GnRH, que ocurren durante el proceso de estimulación ovárica, pudieran tener efectos deletéreos en la receptividad endometrial y explicar las bajas tasas de implantación en relación al número de embriones transferidos. Cuando se comparan las características del endometrio en las pacientes sometidas a HOC con agonistas o antagonistas de la GnRH para FIV-TE, con las características del endometrio en ciclos naturales, se puede observar que las primeras presentan cambios prematuros del patrón secretor en la fase postovulatoria y lútea temprana, seguida de una alteración en la sincronía de las glándulas y el estroma endometrial durante la fase lútea media.

Estos hallazgos han sido corroborados por la modificación en la regulación de los receptores esteroideos con efectos antiproliferativos en el endometrio y por la expresión prematura de los pinópodos y las integrinas, que son biomarcadores de receptividad uterina, en pacientes sometidas a FIV-TE (Bourgain and Devroey, 2003).

A pesar de estos hallazgos, el uso de la HOC en casos de FIV-TE se justifica porque la obtención de múltiples embriones de buena calidad compensa la disminución de la receptividad endometrial que se observa en estas pacientes.

### **REQUERIMIENTOS HORMONALES PARA LA PREPARACIÓN ENDOMETRIAL**

Los estudios de ovodonación en pacientes receptoras (ver cap. 21) han demostrado que la presencia de un embrión preimplantatorio no es requisito para que el endometrio se haga receptivo. De hecho, las pacientes con fallo ovárico a las que se transfieren embriones de buena calidad tienen tasas de embarazo iguales e incluso superiores que aquéllas a las que se les realiza la FIV-TE con sus propios óvulos.

Los estrógenos son indispensables para la proliferación endometrial y de receptores para progesterona; sin embargo, la cantidad y duración del uso de estas hormonas en pacientes que van a ser sometidas a transferencia de embriones, varía de una mujer a otra. Se ha señalado que no existe diferencia en las tasas de implantación y embarazo en las receptoras que reciben terapia con estrógenos durante 5 días, cuando se comparan con las que la reciben durante 35 días (Navot et al., 1989). Este amplio rango de exposición a estrógenos para producir un endometrio receptivo, no debe sorprender porque la duración de la fase folicular y los niveles séricos de estrógenos y progesterona, durante un ciclo menstrual natural, muestran gran variabilidad entre mujeres fértiles.

### **GONADOTROPINA CORIÓNICA HUMANA**

La gonadotropina coriónica humana (HCG) es una hormona glicoproteica que pertenece a la misma familia de la hormona foliculoestimulante (FSH), hormona luteinizante (LH) y hormona estimulante de la tiroides (TSH). Todas éstas comparten una misma subunidad  $\alpha$ , pero tienen diferentes unidades  $\beta$  que son las que les dan las características biológicas propias. El mRNA de la  $\beta$  HCG puede ser detectado por hibridización in situ desde que el embrión está en estado de 6-8 células (Birken et al., 1998).

Se ha señalado que la HCG representa la mejor señal de la actividad del trofoblasto porque no sólo rescata al cuerpo lúteo de la atrofia sino que también modula el ambiente uterino y lo prepara para la implantación.

Esta respuesta se caracteriza por la alteración en la morfología y actividad bioquímica de los tres tipos de células endometriales principales: el epitelio luminal, el glandular y los fibroblastos del estroma. La acción sobre el epitelio luminal requiere del sinergismo con



el ovario y se caracteriza por una hipertrofia de su superficie. Mientras que la acción sobre el epitelio glandular y los fibroblastos es independiente del ovario y se caracteriza por la producción de enzimas como la glicodelina y la actina  $\alpha$  del músculo liso, que favorecen la transformación del endometrio no receptivo a receptivo (Cameo et al., 2004)

También se ha señalado que la HCG puede tener un efecto local sobre el sistema inmunológico que permite la supervivencia fetal y previene la muerte de las células endometriales (Cameo et al., 2004).

### BIOMARCADORES DE RECEPTIVIDAD UTERINA

Con el advenimiento de las técnicas de biología molecular, se ha podido comprender parte de los eventos que ocurren durante la implantación embrionaria y establecer modelos hipotéticos que expliquen las interacciones moleculares que se establecen entre el trofoblasto embrionario y el endometrio materno. Gracias a estas investigaciones, se puede afirmar que la implantación embrionaria es la consecuencia de una serie de procesos complejos que involucran la acción conjunta y coordinada de los esteroides ováricos, estradiol y progesterona, y de una serie de biomoléculas, como las citocinas y las moléculas de adhesión, que son producidas y secretadas tanto por el endometrio materno, como por el embrión. Estas moléculas parecen tener una función importante en la implantación embrionaria y, aunque el papel de algunas es incierto, muchas de ellas pudieran actuar en la implantación como agentes señalizadores paracrinós y autocrinos.

Las técnicas inmunohistoquímicas y de hibridación *in situ* en biopsias endometriales han permitido determinar la presencia de ciertas moléculas, como mucina, integrinas, proteínas transmembrana y citocinas; y estructuras microscópicas, como los pinópodos, que se expresan durante la ventana de implantación y permiten demostrar la estrecha interacción que existe entre el endometrio materno y la superficie del trofoectodermo del blastocisto eclosionado.

### Pinópodos

Son estructuras involucradas en procesos de endocitosis y exocitosis, que se han observado en la superficie del epitelio luminal endometrial de una gran variedad de especies, incluyendo los humanos. Su aparición obedece a un patrón temporal y espacial dependiente de progesterona, que se corresponde con el período de la ventana de implantación embrionaria, por

lo que pudieran representar un marcador de receptividad uterina (Giudice, 1999).

Los pinópodos se han observado mediante microscopía electrónica, al evaluar las muestras obtenidas por biopsia de endometrio en las diferentes etapas del ciclo menstrual, como proyecciones sobre la superficie de la membrana apical del epitelio luminal endometrial, que comienzan a aparecer entre los días LH +5 y LH +6 y presentan su máxima expresión en la fase secretora media del ciclo, es decir, entre los días LH +7 y LH +11, período que se corresponde con la ventana de implantación (Usadi et al., 2003; Nikas et al., 1999) (fig. 4-12). Otro hallazgo que vincula los pinópodos al proceso de implantación es que, en estudios *in vitro* realizados en embriones humanos, estas estructuras han sido localizadas en el lugar de interacción del embrión con el endometrio.

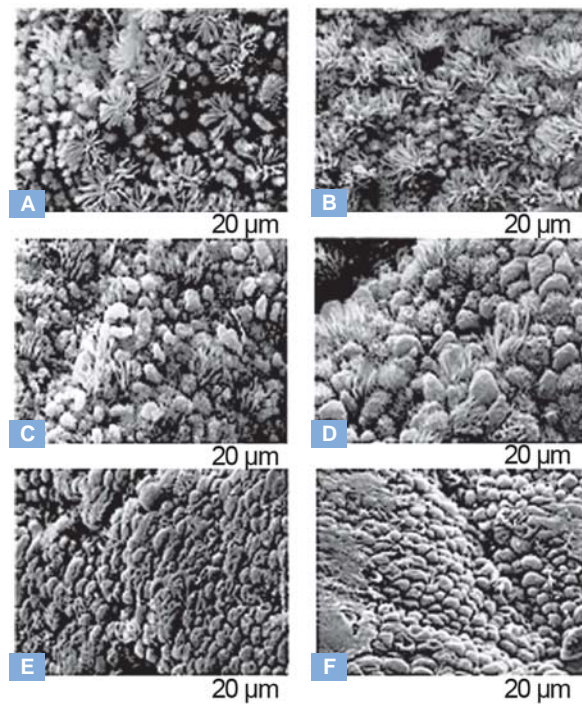


Figura 4-12.  
Expresión de pinópodos durante la fase lútea.

A: día 2. B: día 5. C: día 8. D: día 10. E: día 11. F: día 14.

La función de los pinópodos no está bien establecida, algunos estudios apoyan la hipótesis de que estas estructuras podrían retirar macromoléculas del fluido uterino para facilitar la adhesión del blastocisto, mientras que otros investigadores piensan que podrían presentar receptores para moléculas de adhesión, tipo integrinas o interleucinas (Bentin-Ley et al., 1999).



## Integrinas

Pertenecen a la familia de las moléculas de adhesión celular, al igual que las inmunoglobulinas, cadherinas y selectinas, y son glicoproteínas heterodiméricas transmembrana, compuestas por dos subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  asociadas por uniones no covalentes (Giudice, 1999; Lindhard et al., 2002).

Las integrinas están involucradas en las uniones célula-célula y en la interacción célula-matriz extracelular, donde actúan como receptores de ligandos tipo laminina, fibronectina y vitronectina, que son componentes de la matriz extracelular. Estos ligandos se caracterizan por presentar secuencias repetidas del tripéptido arginina, glicina y asparagina (Arg-Gly-Asp) denominadas RGD. Las integrinas operan como moléculas de señalización de doble vía: de dentro hacia afuera de la célula, regulando la afinidad y conformación del receptor; y de afuera hacia dentro, iniciando eventos intracelulares mediante la ocupación del receptor por su ligando (Lindhard et al., 2002).

Se ha demostrado la presencia de integrinas en endometrio, oocitos, embriones y placenta, por lo que su implicación en la fisiología reproductiva y más aún en la implantación embrionaria, cada vez es más conocida. El endometrio es el único tejido que presenta dos tipos de integrinas: las constitutivas, que se expresan durante todo el ciclo menstrual, y las ciclodependientes, que se expresan únicamente durante la fase secretora endometrial (Lessey et al., 1994; Tabibzadeh, 1992).

Estudios realizados con técnicas inmunohistoquímicas, en muestras obtenidas por biopsias endometriales durante los días 20-24 del ciclo, período que corresponde a la fase lútea media, han revelado la presencia de tres subunidades de las integrinas denominadas  $\alpha_4$ ,  $\beta_3$ ,  $\alpha_1$  y el heterodímero  $\alpha_v\beta_3$ . Además, se ha determinado que la expresión de dichas integrinas se va intensificando conforme se acerca la fase lútea media, cuando alcanzan su expresión máxima, lo cual las hace excelentes candidatas como marcadores de receptividad uterina (Lessey et al., 2000; Creus et al., 1998).

También ha sido posible diferenciar las integrinas ciclodependientes y las integrinas constitutivas, al determinar la expresión de su ARNm en biopsias de endometrio en diferentes etapas del ciclo menstrual. Se ha demostrado que las integrinas  $\alpha_4$ ,  $\alpha_v$ ,  $\beta_1$  y  $\beta_3$  están presentes sólo durante la fase secretora del ciclo (Dou et al., 1999), mientras que las integrinas  $\alpha_6$  y  $\beta_4$ , que actúan como el receptor de lamina de la matriz extracelular, son expresadas uniformemente a través de todo

el ciclo menstrual, es decir pertenecen al grupo de las integrinas constitutivas (Murray et al., 1999).

Diversos estudios han señalado una asociación estrecha entre la expresión de la integrina  $\alpha_v\beta_3$  y la madurez histológica del endometrio; de hecho, esta integrina aparece el día 20 del ciclo menstrual y es la primera que se expresa en mujeres con ciclos normales (Lessey et al., 2000; Creus et al., 1998).

Con los programas de donación de oocitos, se ha podido definir que la implantación es un proceso sincronizado y que cualquier factor que altere esta sincronía afectará de forma directa la tasa de embarazos (Bergh, 1992; Pope, 1998). Uno de estos factores es la endometriosis que hace que se retarde la aparición de la fase secretora, con lo que se retrasa la expresión de las integrinas ciclodependientes, que podrían impedir el anclaje normal del embrión (Blasco, 1994).

También se ha estudiado la expresión de integrinas en lugares distintos al endometrio como el epitelio luminal de la trompa de Falopio, donde se ha identificado la presencia de la subunidad  $\beta_3$  durante el período de receptividad uterina. La función fisiológica de este evento todavía es desconocida; sin embargo, se ha relacionado con la presencia de embarazo ectópico (Süiz et al., 1998).

Las integrinas también han sido evaluadas en el embrión humano y se ha observado, cuando se cultivan *in vitro*, que la subunidad  $\alpha_v$  se expresa durante el desarrollo embrionario y que el dímero  $\alpha_v\beta_3$  está presente en el trofoblasto (Dubey, 2001).

La expresión de una molécula llamada osteopontin, que funciona como el receptor para la integrina  $\alpha_v\beta_3$ , ha sido estudiada en endometrio y se ha encontrado un incremento del ARNm de este receptor, durante la ventana de implantación embrionaria. La importancia de este hallazgo es que esta molécula puede actuar como un puente ligando que media la adhesión de las integrinas  $\alpha_v\beta_3$  endometriales y embrionarias (Von Wolff et al., 2001).

## MUC1

El epitelio endometrial, al igual que muchos otros epitelios secretorios cicliados y ricos en microvellosidades, contiene en su glicocálix una molécula altamente glicosilada denominada MUC1, también conocida como mucina epitelial polimórfica, que se caracteriza por tener un largo dominio extracelular compuesto por un número variable de segmentos repetidos, que conservan una secuencia de 20 aminoácidos,



con al menos cinco sitios de posibles glicosilaciones (Aplin, 1999; Lindhard et al., 2002).

Entre las funciones de MUC1 se encuentran: proteger a la célula de la acción enzimática, al limitar el acceso a receptores por impedimento estérico; promover eventos de adhesión célula-célula y célula-matriz extracelular y, a través de los glicanos, servir de ligando a ciertas moléculas expresadas por el trofoectodermo (Lindhard, 2002).

Estudios realizados en endometrio han revelado que la expresión del MUC1 varía según la especie y según el momento del ciclo menstrual. Así, se ha demostrado que en el ratón tiene una regulación positiva durante la fase de implantación; mientras que en el conejo se ha observado una disminución de la expresión del MUC1, pero sólo en el sitio de implantación (Lindhard, 2002). En humanos, esta molécula se expresa en el endometrio durante todo el ciclo; sin embargo, durante la fase de implantación se observa un incremento importante de esta molécula, que coincide con el aumento de los niveles de progesterona y estradiol, los cuales pudieran ejercer un efecto de regulación positiva sobre la expresión del ARNm de MUC1 (Hey, 1995).

Estudios *in vitro*, utilizando cocultivos de células epiteliales endometriales en monocapas, han demostrado que la presencia del blastocisto incrementa los niveles de MUC1 y de su ARNm, al compararlo con cultivos sin embriones o con embriones bloqueados en su desarrollo (Meseguer et al., 2001; Aplin et al., 2001). Debido a esto, se evaluó la posibilidad de que el embrión regule de alguna manera la expresión del MUC1 en cultivo y se encontró que, paradójicamente, sus niveles en el lugar de implantación del embrión humano están ausentes y se van incrementando a medida que las células se alejan del sitio de implantación, lo que sugiere que, durante la fase de adhesión, el embrión puede inducir una señalización local de tipo paracrina, que ocasiona el clivaje de MUC1, sólo en el lugar de implantación (Meseguer et al., 2001; Aplin, 2001).

Se ha demostrado que la molécula MUC1 puede experimentar variaciones en las glicosilaciones en el lugar donde se implanta el blastocisto y que los cambios en las glicofomas de la molécula, pueden modificar las tasas de implantación, de allí la importancia de la composición bioquímica del MUC1 en la adhesión embrionaria (Campbell et al., 2000; DeLoia et al., 1998)

Los hallazgos indican que el MUC1 está involucrado en los estadios tempranos de la implantación humana, como molécula de adhesión, para reforzar la

acción adherente ejercida por las integrinas. Sin embargo, también puede actuar como molécula antiadhesión, debido la barrera natural con que se puede encontrar el embrión en el glicocálix epitelial del endometrio, que expresa MUC1. Se ha señalado que la presencia del MUC1 en las trompas de Falopio puede actuar como un mecanismo regulador para evitar la implantación ectópica, al ejercer, en ese epitelio, la función de molécula antiadherente (Hey et al., 2003).

La evaluación clínica de esta molécula como marcador de receptividad uterina todavía es incierto; sin embargo, se puede plantear la hipótesis de que su expresión es modulada de manera local por señales producidas por el mismo blastocisto, pero se requieren estudios más detallados que definan de manera más específica la función del MUC1 en la implantación embrionaria.

### Complejo trophin-tastin

Es un complejo de proteínas transmembrana que fue identificado por primera vez en el año 1995, en células de teratocarcinoma trofoblástico, como moléculas de anclaje en el endometrio. Se ha demostrado que está presente durante la ventana de implantación y que media la adhesión entre el endometrio y el trofoblasto embrionario, en sus respectivas membranas celulares y que es indispensable en las fases de aposición-adhesión del proceso de implantación embrionaria (Dey, 2004; Aplin; 1997).

Trophin está ausente en la fase proliferativa endometrial y se expresa en la fase secretora, principalmente en el sitio de implantación, tanto en el endometrio como en el trofoblasto. Esta molécula es una proteína intrínseca de membrana, que posee una región aminoterminal en el citoplasma. Por su parte, tastin es una proteína citoplasmática soluble, que requiere de trophin para cumplir su función de molécula de adhesión celular, formando especies de parches en el lugar de implantación.

Este complejo recientemente ha sido implicado en el proceso de implantación, debido a que se ha determinado su expresión en el trofoectodermo del mono. La expresión de trophin-tastin en el endometrio humano está restringida a la región apical de la membrana plasmática de la superficie del epitelio en fase secretora. Embriones de ratones mutantes para trophin, en los cuales se ha inactivado el gen de esta proteína por técnicas de recombinación homóloga, no logran que el embrión se ancle en el endometrio, lo que indica que la presencia de este complejo es crucial en el proceso de implantación (Suzuki et al., 1999).



## Citocinas

Se definen como un grupo de polipéptidos o glicoproteínas de bajo peso molecular, involucrados en una diversidad de procesos biológicos (Goldsby et al., 2000). En general, las citocinas son consideradas moléculas pleotrópicas, es decir, que tienen la capacidad de activar diferentes tipos celulares, actuando como mediadoras intercelulares e intracelulares (paracrinos, endocrinos o autocrinos).

### Factor inhibidor de leucemia

El factor inhibidor de leucemia (LIF) es una citocina glicoproteica que pertenece a la familia de la interleucina 6 (IL-6) y que ejerce su efecto a través de un receptor de superficie, constituido por dos subunidades dimerizadas, una cadena  $\beta$  y otra cadena, denominada gp130. La cadena  $\beta$  se une específicamente al LIF y luego la gp130 forma un complejo dimérico con el LIF $\beta$  para constituir un receptor de alta afinidad, que está expresado en una diversidad de células como neuronas, macrófagos, adipocitos, osteoclastos, mieloblastos, entre otras (Lass et al., 2001).

Numerosas investigaciones han determinado que el LIF, además de expresarse en el endometrio, está implicado en el desarrollo embrionario preimplantatorio, en la implantación y el embarazo temprano. Adicionalmente, esta citocina se ha encontrado en las trompas de Falopio y su receptor ha sido localizado en placenta, oocitos y embriones preimplantados. El LIF parece ejercer un efecto positivo sobre el crecimiento del blastocisto, su diferenciación, e incluso parece tener influencia en el proceso de eclosión, como lo demuestran estudios realizados en embriones de ratón (Tasai et al., 1999).

La importancia de esta citocina en el proceso implantatorio ha sido demostrada porque los blastocitos de ratones que no producen el gen que codifica al LIF son incapaces de implantarse (Lass et al., 2001). En humanos se ha logrado comprobar que la expresión de LIF y de su ARNm es máxima en la fase secretoria media y tardía del ciclo menstrual, lo que coincide con el momento de receptividad uterina.

En relación con el efecto que tienen las hormonas esteroideas maternas, se ha determinado que para que ocurra su regulación positiva es necesario la presencia de estradiol; sin embargo, la acción de la progesterona es menos clara, algunos estudios no han encontrado efecto sobre la expresión de la citocina, mientras que otros revelan un efecto de regulación negativa sobre la expresión de LIF (Lindhard et al., 2002).

Otro hallazgo interesante es que se ha encontrado una expresión espacial y temporal de LIF y la aparición de los pinópodos endometriales en biopsias de mujeres fértiles. Esto sugiere que ambos están presentes en el endometrio receptivo y que pudieran ser biomarcadores de receptividad uterina (Aghajanova et al., 2003).

### Interleucina 1

El sistema Interleucina 1 (IL-1) consiste en tres estructuras polipeptídicas relacionadas. La IL-1 $\alpha$ , la IL-1 $\beta$ , y una tercera estructura, el receptor antagonista IL-1RA, que inhibe la actividad de esta citocina. Adicionalmente, en el endometrio humano se han encontrado dos tipos de receptores para IL-1, el receptor tipo 1 (IL-1RtI) y el tipo 2 (IL-1RtII); de ellos, sólo el receptor tipo 1 resulta ser funcionalmente activo.

Estudios inmunohistoquímicos han demostrado la expresión de IL-1 $\beta$ , su receptor tipo 1 (IL-1RtI) y su receptor antagonista (IL-1RA), incluso se ha determinado que la expresión del receptor de IL-1 aumenta significativamente durante la fase lútea media del ciclo (Lindhard et al., 2002).

Otros estudios han demostrado la expresión del ARNm de IL-1 $\beta$ , IL-1RtI y de IL-1RA en embriones humanos cultivados. Más interesante aún, resulta la presencia de IL-1RA en embriones bloqueados en su desarrollo (Krussel et al., 1998). Otro grupo de investigadores corroboran estos hallazgos, al determinar la presencia de estas tres formas de IL-1 en oocitos y en todos los estadios de embriones humanos. Adicionalmente, estudios realizados utilizando cocultivos con células epiteliales y del estroma endometrial han establecido una posible influencia del endometrio materno sobre la liberación del sistema de IL-1 por parte del embrión (De los Santos et al., 1996).

Finalmente, estudios in vitro indican que la unión de la IL-1 a su receptor provoca un incremento en la expresión de la subunidad  $\beta_3$  de las integrinas y del factor inhibidor de leucemia LIF, lo que sugiere que la IL-1 podría ser la primera citocina activada en el establecimiento del diálogo embrión-endometrio, y que la unión de ésta a su receptor podría desencadenar una segunda oleada de otras citocinas y moléculas involucradas en la adhesión embrionaria.

### Factor estimulante de colonia tipo 1

El factor estimulante de colonia tipo 1 (CSF-1) es un factor de crecimiento que garantiza la supervivencia, proliferación y diferenciación de los monocitos, que



tiene una importante función en la fisiología reproductiva. El CSF es definido como un homodímero glicosilado, cuya forma biológicamente activa requiere la presencia de uniones disulfuro.

Diversos estudios han demostrado que el CSF-1 se expresa durante todo el ciclo menstrual (Shinetugs et al., 1999); sin embargo, durante la fase secretoria del ciclo, los niveles de esta citocina son más altos que los observados en la fase proliferativa. Adicionalmente, se ha señalado que se expresa en embriones humanos a lo largo del período preimplantatorio (Shinetugs et al., 1999). Dado que el CSF-1 está presente en el endometrio, es posible que éste interactúe con su receptor en el trofoectodermo, promoviendo la adhesión y el anclaje del blastocisto (Lindhard et al., 2002).

Ensayos realizados en ratones demuestran que la presencia de CSF-1 acelera la formación del blastocelo e incrementa el número de células del trofoblasto. Además, se ha determinado en humanos que su presencia estimula la diferenciación y proliferación del trofoblasto (Lindhard et al., 2002). Otros ensayos en ratones han demostrado que la ausencia del CSF-1 interrumpe el ciclo estral y la ovulación (Sharkey et al., 1995). Además, el hecho de que el CSF-1 se exprese en las células de la decidua durante el primer trimestre del embarazo, sugiere un efecto adicional sobre el proceso de placentación.

## ■ OTROS POSIBLES MARCADORES DE RECEPTIVIDAD UTERINA

### Calcitonina

La calcitonina es un péptido secretado por las células parafoliculares de la tiroides que regula la homeostasis de calcio en respuesta a la hipercalcemia, disminuyendo sus niveles en suero al inhibir la actividad de los osteoclastos.

Está presente en tejidos como pulmón, hígado, intestino, sistema nervioso central y también en útero, como lo comprueban estudios en los que se demuestra la expresión de ARNm de calcitonina en la mucosa uterina durante la fase media secretora del ciclo menstrual (Kummar et al., 1998).

También se ha señalado que la expresión del gen de calcitonina es inducido por la progesterona y que en el endometrio humano no se han detectado niveles de este péptido durante la fase proliferativa del ciclo, lo que sugiere que esta hormona se incrementa durante el período de implantación (Cavagna et al., 2003).

## Genes Hox

Son factores de transcripción que pertenecen a una multifamilia de genes, cuya característica común es la presencia de secuencias altamente conservadas conocidas como homeobox, que codifican los denominados dominios de unión al ADN.

Existen cuatro grupos de genes Hox (A, B, C, D) organizados en cuatro cromosomas diferentes, que siguen un estricto patrón de aparición espacio temporal durante la embriogénesis. Los genes Hox en vertebrados han sido clasificados como genes *AbdB* por su homología con el gen *AbdB* de la mosca *Drosophila*.

Los genes *Hoxa-10* y *Hoxa-11* son altamente expresados durante el desarrollo del tracto genitourinario y el tracto reproductivo femenino adulto, lo cual sugiere una función de ambos genes en los eventos reproductivos.

Estudios realizados en ratones deficientes del gen *Hoxa-10* muestran fallas en la implantación del blastocisto y en la decidualización, en tanto que ratones deficientes en *Hoxa-11* presentan alteraciones en la proliferación de las células del estroma presuntamente por una expresión aberrante en la ciclina D3, lo cual sugiere que este gen está involucrado en eventos locales de proliferación al regular las moléculas del ciclo celular (Dey et al., 2004).

Cabe destacar que al igual que los otros biomarcadores de receptividad uterina, los genes Hox se expresan en respuesta a estímulos hormonales durante la fase media secretora el ciclo menstrual, que coincide con la ventana de implantación, para regular el crecimiento y desarrollo del endometrio humano.

Adicionalmente, se ha observado una expresión alterada de los genes Hox en mujeres con endometriosis, lo cual sugiere que pacientes afectadas por esta enfermedad podrían presentar alteraciones moleculares en la expresión de dichos genes, lo cual se traduciría en defectos en la receptividad endometrial a causa de un incremento defectuoso en la expresión de los genes *Hox-10* y *Hox-11* (Cavagna, 2003).

Todos estos hallazgos sugieren que la expresión apropiada de estos genes es necesaria para una adecuada receptividad uterina y una implantación normal (fig. 4-13).



Figura 4-13.

Embrión de 4-5 semanas implantado en el endometrio.

Tomado de Lennart Nilsson. *The Miracle of Life*, 1990.

## BIOMARCADORES DE RECEPTIVIDAD UTERINA E INFERTILIDAD

Son innumerables las evidencias morfológicas (Sarani et al., 1999) e inmunohistoquímicas (Acosta et al., 2000) que indican que el endometrio sufre una serie de modificaciones estructurales y funcionales para cumplir la función de anidar el embrión. Gracias a esto, hoy se conoce que la implantación es un proceso que depende de la expresión de un grupo de biomoléculas que garantizan la receptividad uterina (Damario et al., 2001; Karagouni et al., 1998). Cualquier desbalance o trastorno en la expresión de estas moléculas podría alterar la implantación y repercutir directamente en la concepción y en la fertilidad de la mujer.

Diversos estudios en pacientes sometidas a FIV-TE señalan la importancia de una buena morfología embrionaria, para una adecuada tasa de implantación (Tesarik et al., 1999; Tesarik et al., 2000; Scott et al., 2000; Weber, 1999; Hsu et al., 1999). Sin embargo, existe un porcentaje de estas pacientes, a quienes tras haberseles transferido embriones de excelente calidad no logran el embarazo, lo cual se podría explicar por las alteraciones en los biomarcadores de receptividad uterina (Thomas et al., 2003).

Se ha descrito que las diferentes terapias de estimulación hormonal pueden provocar modificaciones en la expresión de integrinas y en la formación de pinópodos, afectando también las tasas de embarazo (Creus

et al., 2003, Ertzeid et al., 2001). Incluso el uso de anti-conceptivos orales puede alterar la receptividad uterina porque modifica la estructura del endometrio receptivo al modular la expresión de los marcadores de receptividad uterina (Wilks et al., 2000).

Por otra parte, diversas patologías asociadas a la infertilidad como el retraso en la fase lútea, la endometriosis y el hidrosálpinx han sido asociadas con alteraciones en las moléculas de adhesión que se traducen en la incapacidad del endometrio de implantar el embrión (Lessey et al., 1995).

El estudio de los biomarcadores de receptividad uterina se debe orientar a determinar la existencia de alteraciones en los patrones de expresión de cada una de las moléculas descritas, para establecer de esta manera si ellas son las responsables de fallas en el proceso de implantación embrionaria y, en consecuencia, de la infertilidad femenina.

En el futuro, la investigación del patrón de expresión de los biomarcadores de receptividad uterina puede que sea uno de los estudios de rutina en pacientes con infertilidad de causa desconocida.

## RESUMEN

La implantación embrionaria se define como el proceso a través del cual el embrión se ancla en el endometrio, con la finalidad de formar la placenta; este mecanismo marca un paso adelante en la evolución porque permite dar sustento, nutrición y protección al embrión durante la gestación.

La ventana de implantación es el período en el cual el endometrio se hace receptivo al embrión, ésta varía según la especie; en los humanos se corresponde con la fase media secretora del ciclo menstrual, tiene una duración de 5 días y comienza el día 20 en mujeres con ciclos menstruales regulares de 28 días de duración.

La fertilización normal en los humanos ocurre en la región ampular de la trompa de Falopio en las primeras 24 horas de la relación sexual fecundante. Entre los días 1 y 4 el embrión atraviesa el oviducto y llega al útero el día 4-5. Luego el blastocisto pasa entre 2 y 3 días dentro del endometrio sin adherirse, durante ese período sufre el proceso de eclosión, hasta que ocurre la invasión del trofoblasto el día 7-8 luego de la fertilización. En los si-





guientes 275 días ocurre el desarrollo del embrión, la formación del feto y su maduración hasta el momento del nacimiento.

La adhesión del embrión comprende el anclaje firme del trofoblasto en el epitelio luminal endometrial, el cual, bajo condiciones hormonales específicas, se transforma de un estado no receptivo a uno receptivo. La invasión requiere de la penetración del trofoblasto en el endometrio, seguido de la decidualización del estroma subyacente. Este proceso culmina con la penetración de las arterias espirales maternas dentro del útero. Se ha señalado que la HCG representa la mejor señal producida por el trofoblasto porque no sólo rescata al cuerpo lúteo de la atrofia sino que también modula el ambiente uterino y lo prepara para la implantación.

Las técnicas inmunohistoquímicas y la hibridización *in situ* en biopsias endometriales han permitido determinar la presencia de ciertas moléculas, como mucina, integrinas, proteínas transmembrana y citocinas; y estructuras microscópicas, como los pinópodos, que se expresan durante la ventana de implantación y permiten demostrar la estrecha interacción que existe entre el endometrio materno y la superficie del trofoectodermo del blastocisto eclosionado.

Un marcador de receptividad uterina debería ser ciclodependiente, es decir, su expresión debe variar de acuerdo a la etapa del ciclo menstrual. Considerando que la ventana de implantación en humanos está determinada entre los días 20-24 del ciclo menstrual, todo marcador debe tener una expresión máxima durante este período.

Queda mucho por aclarar con respecto a la acción que puedan ejercer cada una de estas moléculas en la implantación; sin embargo, existe una gran limitante desde la perspectiva ética en la realización de estos ensayos que requiere la experimentación con embriones humanos, sobre todo considerando que muchos de los conocimientos actuales obedecen a diseños experimentales con otras especies y son muy pocos los ensayos con blastocistos humanos.

A pesar de esto, queda claro que el endometrio sufre una serie de cambios y expresa una cantidad de moléculas durante la ventana de implantación, y que cualquier factor que altere o modifique la expresión de esas moléculas, tendría una incidencia directa sobre la fertilidad.

En el futuro puede que las moléculas implicadas en la implantación embrionaria sean parte del estudio de infertilidad, principalmente cuando la causa es desconocida o existen fallos de implantación.

## REFERENCIAS

- ACOSTA A, ELBERGER L, BORCHI M, CALAMERA J, CEMES (2000). Endometrial dating and determination of the window of implantation in healthy fertile women. *Fertil Steril*; 73:788-798.
- AGHAJANOVA L, STRAVREIUS-EVERS A, NIKAS Y, HOVATTA O, LANDGREN B (2003). Coexpression of pinopodes and leukemia inhibitory factor, as well as its receptor, in human endometrium. *Fertil Steril*; 79(11):808-814.
- APLIN J (1991). Implantation, trophoblast differentiation and haemochorial placentation: mechanistic evidence *in vivo* and *in vitro*. *J Cell Sci*; 99(4):681-692.
- APLIN J (1997). Adhesion molecules in implantation. *Rev Reprod*; 2:84-93.
- APLIN J (1999). MUC-1 glycosylation in endometrium: possible roles of the apical glycocalyx at implantation. *Hum Reprod*; 14(2):17-25.
- APLIN J (2000). The cell biological basis of human implantation. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*; 14(5):757-764.
- APLIN J, MESEGUER M, SIMON C, ORTIZ M, CROXATTO H, JONES C (2001). MUC1, glycans and the cell-surface barrier to embryo implantation. *Biochem Soc Trans*; 29(2):153-159.
- ARTLEY J, BRAUDE P, JOHNSON M (1992). Gene activity and cleavage arrest in human pre-embryos. *Hum Reprod*; 7(7):1014-1021.
- BAZER F (1992). Mediators of maternal recognition of pregnancy in mammals. *Proc Soc Exp Biol Med*; 199(4):373-384.
- BENTIN-LEY U, SJÖGREN A, NILSSON L, HAMBERGER L, LARSEN J, HORN T (1999). Presence uterine pinopodes at the embryo-endometrial interface during human *in vitro*. *Hum Reprod*; 14(2):515-520.
- BERGH P, NAVOT D (1992). The impact of embryonic development and endometrial maturity on the timing of implantation. *Fertil Steril*; 58(3):537-542.
- BIRKEN S, O'CONNOR J, LOBER L, CANFIELD R (1998). Chorionic gonadotropin, human (vol. 1). In: KNOBIL E, NEILL J (eds.). *Encyclopedia of Reproduction*. San Diego: Academic Press.
- BISCHOF P, MEISSER A, CAMPANA A (2000). Paracrine and autocrine regulators of trophoblast invasion. A review. *Placenta*; 21(A):S55-S60.
- BLASCO L (1994). Dyssynchrony in the maturation of endometrial glands and stroma. *Fertil Steril*; 61:596-597.



- BOURGAIN C, DEVROEY P (2003). The endometrium in stimulated cycles for IVF. *Hum Reprod Update*; 9(6):515-522.
- CAMEO P, SRISUPARP S, STRAKOVA Z, FAZLEABAS A (2004). Chorionic gonadotropin and uterine dialogue in the primate. *Reprod Biol Endocrinol*; 2:50-56.
- CAMPBELL S, LARSEN J, SEIF M, ALLEN T, KNOX F, JONES C, APLIN J (2000). Mosaic characteristics of human endometrial epithelium in vitro: analysis of secretory markers and cell surface ultrastructure. *Mol Hum Reprod*; 6(1):41-49.
- CAVAGNA M, MANTESE J (2003). Biomarkers of endometrial receptivity. A review. *Placenta*; 24(B):S39-S47.
- CREUS M, BALASCH J, ORDI J, FABREGUES F, CASAMITJANA R, QUINTO L, COUTIFARIS C, VANRELL J (1998). Integrin expression in normal and out-of-phase endometria. *Hum Reprod*; 13:3460-3468.
- CREUS M, ORDI J, FABREGUES F, CASAMITJANA R, CARMONA F, CARDESA A, VANRELL J, BALASCH J (2003). The effect of different hormone therapies on integrin expression and pinopode formation in human endometrium: a controlled study. *Hum Reprod*; 18(4):683-693.
- DAMARIO M, LESNICK T, LESSEY B, KOWALIK A, MANDELIN E, SEPPALA M, ROSENWAKS Z (2001). Endometrial markers of uterine receptivity utilizing the donor oocyte model. *Hum Reprod*; 16(9):1893-1899.
- DE LOS SANTOS M, MERCADER A, FRANCES A, PORTOLES E, REMOHI J, PELLICER A, SIMON C (1996). Role of endometrial factors in regulating secretion of components of the immunoreactive human embryonic interleukin-1 system during embryonic development. *Biol Reprod*; 54:563-574.
- DELOIA J, KRASNOW J, BREKOSKY J, BABAKNIA A, JULIAN J, CARSON D (1998). Regional specialization of the cell membrane-associated, polymorphic mucin (MUC1) in human uterine epithelia. *Hum Reprod*; 13(10):2902-2909.
- DEY S, LIM H, DAS K, REESE J, PARIA B, DAIKOKU T, WANG H (2004). Molecular cues to implantation. *Endocr Rev*; 25(3):341-373.
- DIAZ S, ORTIZ M, CROXATTO H (1980). Studies on the duration of ovum transport by the human oviduct. III. Time interval between the luteinizing hormone peak and recovery of ova by transcervical flushing of the uterus in normal women. *Am J Obstet Gynecol*; 137(1):116-121.
- DOU Q, WILLIAMS S, CHEGINI N (1999). Expression of integrin messenger ribonucleic acid in human endometrium: a quantitative reverse transcription polymerase chain reaction study. *Fertil Steril*; 71(2):347-353.
- DUBEY A, CRUZ J, HARTOG B, GINDOFF P (2001). Expression of the  $\alpha_5$  integrin adhesion molecule during development of preimplantation human embryos. *Fertil Steril*; 76:153-156.
- EDWARDS R (1995). Clinical approaches to increasing uterine receptivity during human implantation. *Hum Reprod*; 10(2):60-66.
- ERTZEID G, STORENG R (2001). The impact of ovarian stimulation and fetal development in mice. *Hum Reprod*; 16:221-225.
- FAWCETT D (1989). Sistema reproductor femenino. En: *Tratado de Histología Bloom-Fawcett*. México, D.F.: McGraw-Hill Interamericana.
- FLECHON J, GUILLOMOT M, CHARLIER M, FLECHON B, MARTAL J (1986). Experimental studies on the elongation of the ewe blastocyst. *Reprod Nutr Dev*; 26(4):1017-1024.
- GIUDICE L (1999). Potential biochemical markers of uterine receptivity. *Hum Reprod*; 14(2):3-16.
- GOLDSBY R, KINDY T, OSBORNE B (2000). Cytokines. In: KUBY J (ed.). *Immunology*. New York: Freeman and Company.
- GUILLOMOT M (1995). Interactions during implantation in domestic ruminants. *J Reprod Fertil*; 49S:39-51.
- GUILLOMOT M, FLECHON J, LEROY F (1993). Blastocyst development and implantation. In: THIBAUT C, LEVASSEUR M, HUNTER R (eds.). *Reproduction in Mammals and Man*. Paris: Ellipses.
- HERRLER A, VON RANGO U, BEIER H (2003). Embryo-maternal signalling: how the embryo starts talking to its mother to accomplish implantation. *Reproduction Biomed Online*; 6(2):244-256.
- HEY N, LI T, DEVINE P, GRAHAM R, APLIN J (1995). MUC1 in secretory phase endometrium: expression in precisely dated biopsies and flushing from normal and recurrent miscarriage patients. *Hum Reprod*; 10:2655-2662.
- HEY N, MESEGUER M, SMORODINSKY N, WRESCHNER D, ORTIZ M, APLIN J (2003). Transmembrane and truncated (SEC) isoforms of MUC1 in the human endometrium and Falopian tube. *Reprod Biol Endocrinol*; 30(1):1-2.
- HSU M, MAYER J, ARONSHON M, LANZENDORF S, MUASHER S, KOLM P, OEHNINGER S (1999). Embryo implantation in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: impact of cleavage status, morphology grade, and number of embryos transferred. *Fertil Steril*; 72(4):679-685.
- KARAGOUNI E, CHRYSIKOPOULOS M, MANTZAVINOS T, KANAKAS N, DOTSICA E (1998). Interleukin 1- $\beta$  and interleukin 1- $\alpha$  may affect the implantation rate of patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*; 70(3):553-559.
- KRUSSEL J, SIMON C, RUBIO M, PAPE A, WEN Y, HUANG H, BIELFELD P, POLAN M (1998). Expression of interleukin-1 system mRNA in single blastomeres from human on implantation embryos. *Hum Reprod*; 13:2206-2211.
- KUMAR S, ZHU L, POLIHONIS M, CAMERON S, BAIRD D, SCHATZ F, DUA A, YING Y, BAGCHI M, BAGCHI I (1998). Progesterone induced calcitonin gene expression in human



- within the putative window of implantation. *J Clin Endocrinol Metab*; 83(12):4443-4450.
- LASS A, WEISER W, MUNAFO A, LOUMAYE E (2001). Leukemia inhibitory factor in human reproduction. *Fertil Steril*; 76(6):1091-1096.
- LENNART N (1990). *The Miracle of Life*. New York: Batam Doubleday Dell Publishing Group Inc.
- LESSEY B (2000). The role of the endometrium during embryo implantation. *Human Reproduction*; 15(6):39-50.
- LESSEY B, CASTELBAUM A, BUCK C, LEI Y, YOWELL C, SUN J (1994). Further characterization of endometrial integrins during the menstrual cycle and in pregnancy. *Fertil Steril*; 62(3):497-506.
- LESSEY B, CASTELBAUM A, SAWIN S, SUN J (1995). Integrins as markers of uterine receptivity in women with primary unexplained infertility. *Fertil Steril*; 63(3):535-542.
- LESSEY B, CASTELBAUM A, WOLF L, GREENE W, PAULSON M, MEYER W, FRITZ M (2000). Use integrins to date the endometrium. *Fertil Steril*; 73(4):779-787.
- LINDHARD A, BENTIN-LEY U, RAVN V, ISLIN H, HVIID T, REX S, BANGSBOLL S, SORENSEN S (2002). Biochemical evaluation of endometrial function at the time of implantation. *Fertil Steril*; 78:221-233.
- LIOTTA L, RAO C, WEWER U (1986). Biochemical interactions of tumor cells with the basement membrane. *Annu Rev Biochem*; 55:1037-1057.
- MESEGUER M, APLIN J, CABALLERO-CAMPO P, O'CONNOR J, MARTIN J, REMOHI J, PELLICER A, SIMON C (2001). Human endometrial mucin MUC1 is up-regulate by progesterone and down-regulate in vitro by human blastocyst. *Biol Reprod*; 64:590-601.
- MURRAY M, ZHANG J, LESSEY B (1999). Expression of  $\alpha_6$  and  $\beta_4$  integrin subunits throughout the menstrual cycle: no correlation with uterine receptivity. *Fertil Steril*; 72(3):522-526.
- NAVOT D, ANDERSON T, DROESCH K, SCOTT R, KREINER D, ROSENWAKS Z (1989). Hormonal manipulation of endometrial maturation. *J Clin Endocrinol Metab*; 68(4):801-807.
- NIKAS G, DEVELIOGLU O, TONER J, JONES H (1999). Endometrial pinopodes indicate a shift in the window of receptivity in IVF cycles. *Hum Reprod*; 14(3):787-792.
- NOYES R, HERTIG A, ROCK J (1950). Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril*; 1:3-25.
- POPE W (1998). Uterine asynchrony: a cause of embryonic loss. *Biol Reprod*; 39(5):999-1003.
- QUEENAN J, FALSEABAS A (1997). Embryo-uterine interactions during implantation. In: SEIBEL M (ed.). *Infertility: a comprehensive text*. Stamford, CT: Appleton & Lane.
- SADLER T (2002). Primera semana de desarrollo: de la ovulación a la implantación (30-47). En: *Langman Embriología Médica con orientación clínica*. Madrid: Panamericana S.A.
- SARANI S, GHAFARI-NOVIN M, WARREN M, DOCKERY P, COOKE I (1999). Morphological evidence for the «implantation window» in human luminal endometrium. *Hum Reprod*; 14:3101-3106.
- SCOTT L, ALVERO R, LEONDIRES M, MILLER B (2000). The morphology of human pronuclear embryos is positively related to blastocyst development and implantation. *Hum Reprod*; 15(11):2394-2403.
- SHARKEY A, DELLOW K, BLAYNEY M, MACNAMEE M, CHARNOCK-JONES S, SMITH S (1995). Stage-expression of cytokine and receptor messenger ribonucleic acids in human preimplantation embryos. *Biol Reprod*; 53(4):974-981.
- SHINETUGS B, RUMERSSON E, BONELLO N, BRANNSTROM M, NORMAN R (1999). Colony factor-1 concentrations in blood and follicular fluid during the human menstrual cycle and ovarian stimulation: possible role in ovulatory process. *Hum Rep*; 14:1302-1306.
- SIMON C, VALBUENA D, MARTÍN J, PELLICER A (2002). La implantación embrionaria. En: REMOHI J, PELLICER A, SIMÓN C, NAVARRO J (eds.). *Reproducción Humana*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España.
- SPENCER T, JOHNSON G, BAZER F, BURGHARDT B (2004). Implantation mechanisms: insights from the sheep. *Reproduction*; 128(6):657-668.
- SÜZ L, VALENZUELA J, SALVATIERRA A, ORTIZ M, CROXATTO H (1998). The expression of  $\alpha_v$  and  $\beta_3$  integrin subunits in the normal human Fallopian tube epithelium suggests the occurrence of a tube implantation window. *Hum Reprod*; 13:2916-2920.
- SUZUKI N, NAKAYAMA J, SHIH I, AOKI D, NOZAWA S, FUKUDA M (1999). Expression of trophinin, tasin and bystin by trofoblast and endometrial cells in human placenta. *Reprod Bio*; 60:621-627.
- TABIBZADEH S (1992). Patterns of expression of integrin molecules in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Hum Reprod*; 7(6):876-882.
- TESARIK J, GRECO E (1999). The probability of abnormal preimplantation development can be predicted by single static observation on pronuclear stage morphology. *Hum Reprod*; 14(5):1318-1323.
- TESARIK J, JUNCA A, HAZOUT A, AUBRIOT F, NATHAN C, COHEN-BACRIE P, DUMONT-HASSAN M (2000). Embryos with high implantation potential after intracytoplasmatic sperm injection can be recognized by a simple, no-invasive examination of pronuclear morphology. *Hum Reprod*; 15:1396-1399.
- THOMAS K, THOMSON A, WOOD S, KINGSLAND C, VINCE G, LEWIS-JONES D (2003). Endometrial integrin expression in women undergoing IVF and ICSI: a comparison



- of the two groups and fertile controls. *Hum Reprod*; 18(2):364-369.
- TSAI H, CHANG C, HSIEH Y, LO H, HSU L, CHANG S (1999). Recombinant human leukemia inhibitory factor enhances the development of preimplantation mouse embryo in vitro. *Fertil Steril*; 71(4):722-725.
- USADI R, MURRAY M, BAGNELL R, FRITZ M, KOWALIK A, MEYER W, LESSEY B (2003). Temporal and morphologic characteristics of pinopod expression across the secretory phase of the endometrial cycle in normally cycling women with proven fertility. *Fertil Steril*; 79(4):970-974.
- VON WOLFF M, STROWITZKI T, BECKER V, ZEPF C, TABIBZADEH S, THALER C (2001). Endometrial osteopontin, a ligand of  $\beta_3$  integrin, is maximally expressed around the time of the «implantation window». *Fertil Steril*; 76(4):775-781.
- WEBER R, PEDERSEN R, WIANNY F, EVANS M, ZERNICKA-GOETZ M (1999). Polarity of the mouse embryo is anticipated before implantation. *Development*; 126(24):5591-5598.
- WILCOX A, BAIRD D, WEINBERG C (1999). Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *N Engl J Med*; 340(23):1796-1799.
- WILKS J, PHARM B (2000). The impact of the pill on implantation factors. New research finding. *Ethics & Medicine*; 16(1):15-22.
- WINTENBERGER-TORRES S, FLECHON J (1974). Ultrastructural evolution of the trophoblast cells of the pre-implantation sheep blastocyst from day 8 to day 18. *J Anat*; 118:143-153.
- WOODING F (1992). Current topic: the synepitheliochorial placenta of ruminants: binucleate cell fusion and hormone production. *Placenta*; 13(2):101-113.

