

## Inmunología del embarazo.

*Rosa Inés Barañao.*

Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME)-CONICET.  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Palabras clave:** hormonas sexuales, citoquinas, tolerancia inmunológica, proteínas inmunomoduladores, HLA-G, leucocitos.

**Resumen.** Uno de los fenómenos que abre más interrogantes en la Inmunología es ¿Por qué el embrión, comportándose como un injerto semialogénico, no es rechazado por la madre? Se sabe que la madre produce una activa respuesta inmunológica frente al feto y sin embargo, en condiciones normales, el rechazo inmunológico no se produce. En el presente trabajo de revisión, se describen algunos mecanismos por medio de los cuales se genera la tolerancia inmunológica específica de la madre hacia el embrión. Todos estos mecanismos son interdependientes, y en conjunto constituyen una trama para evitar el rechazo fetal. Aquí se detalla la acción de las hormonas sexuales femeninas sobre el sistema inmunológico, el cambio del perfil de citoquinas, la generación de proteínas inmunomoduladoras y de anticuerpos bloqueantes, el efecto de la expresión de los HLA-G y el papel de algunas células inmunocompetentes como los linfocitos T reguladores, las células dendríticas y las células asesinas naturales o *Natural Killer*. Asimismo se detallan otras vías por las cuales el embrión se defiende del ataque inmunológico materno como la inducción de la apoptosis en el endometrio y en los leucocitos, el metabolismo de hierro y triptofano, la inhibición del sistema del complemento y la expresión de anexinas.

**Immunology of pregnancy.***Invest Clin 2011; 52(2): 175 - 194*

**Key words:** sex hormones, cytokines, immune tolerance, immunomodulatory proteins, HLA-G, leukocytes

**Abstract.** One of the phenomena that offers more questions in Immunology is: Why the embryo, behaving like a semiallogenic graft, is not rejected by the mother? It is known that the mother produces an active immunological response against the fetus and, nevertheless, in normal conditions, the immunological rejection does not take place. In the present work of revision, some mechanisms are described by means of which the specific immunological tolerance of the mother is generated towards the embryo. All these mechanisms are interdependent and altogether they constitute a safety network to avoid the fetal rejection. Here the effects of female sex hormones on the immunological system, the change of the profile of cytokines, the generation of immunomodulating proteins and blocking antibodies, the effect of the expression of the HLA-G and the paper of some cells, like Regulatory T lymphocytes, dendritic and Natural Killer cells, are detailed. Also other routes by which the embryo defends itself of the maternal immunological attack are described, like the induction of apoptosis in the endometrium and leukocytes, the tryptophan and iron metabolisms, the inhibition of the complement system and the expression of annexins.

*Recibido: 01-09-2010. Aceptado: 17-03-2011.*

**INTRODUCCIÓN**

Desde los inicios de la Inmunología uno de los grandes interrogantes que esta ciencia ha planteado es *¿Por qué el embrión no es rechazado inmunológicamente por la madre?* Así, a lo largo de más de 60 años, se han realizado un sinnúmero de estudios tendientes a resolver este enigma, puesto que el conocimiento de los mecanismos que llevan al no rechazo materno-fetal permitiría entender mejor la fisiología del embarazo y de este modo resolver problemas tales como infertilidad, preeclampsia, abortos recurrentes, nacimientos prematuros y retardo en el crecimiento intrauterino. Además, al develarse qué factores llevan al sistema inmunológico a una tolerancia específica, esto podría ser empleado para mejorar las

prácticas de transplantes de órganos y, por otra parte, dado que idénticas estrategias estarían actuando en el no rechazo inmunológico hacia los tumores, podrían revertirse este tipo de mecanismos y mejorar la terapia oncológica. Este es, quizás, el punto central de esta incógnita inmunológica, ya que es un hecho conocido que los embriones poseen genes maternos y paternos por partes iguales y por lo tanto expresan antígenos de histocompatibilidad de ambos padres. Por ende, podría considerarse que los embriones serían como injertos semialogénicos en la madre y por consiguiente deberían ser rechazados por el sistema inmunológico. Más interesante aún es el caso de los embarazos con embriones concebidos mediante la donación de ovocitos, práctica frecuente en las técnicas de reproducción

asistida, los cuales se comportarían como injertos totalmente alogénicos para la madre receptora.

Se presume que el desarrollo del sistema inmune, desde el punto de vista filogenético, fue establecido antes de la aparición de la viviparidad. Por lo tanto, el sistema reproductivo apareció en conflicto potencial con el sistema inmune, ya que fue necesario encontrar una manera de tolerar al embrión mientras que se debía rechazar cualquier otro material extraño (1).

En 1953, Billingham y Medawar, dos insignes coforjadores de la Inmunología moderna, fueron los primeros en proponer el concepto del aloinjerto embrionario y sugirieron 4 hipótesis para tratar de explicar el no rechazo materno-fetal (2):

- Hipótesis 1. Que el embrión perdiera antigenicidad
- Hipótesis 2. Que el útero fuera un sitio inmunológicamente privilegiado.
- Hipótesis 3. Que existiera una fuerte inmunosupresión durante el embarazo.
- Hipótesis 4. Que existiera una barrera inmunológica (interfase materno-fetal)

En la actualidad se sabe que ninguna de estas hipótesis es válida.

La primera hipótesis planteada ha sido descartada puesto que el rechazo inmunológico de embriones es mucho más común de lo que se supone. Entre el 30 y 50% de los embriones implantados son abortados espontáneamente antes de la 14ª semana de gestación (3) y un 60 a 70% de los abortos espontáneos no puede explicarse por defectos congénitos o por infecciones sino que se deberían a una falta de tolerancia hacia los antígenos embrionarios (4).

En cuanto a la segunda hipótesis, la existencia de embarazos ectópicos, cuyos abortos obedecen a causas mecánicas y no inmunológicas, permite afirmar que el útero no es un sitio inmunológicamente privilegiado. Además, se ha confirmado la presencia de células inmunológicamente com-

petentes en el endometrio. Durante el embarazo, en el útero el 70% de los leucocitos residentes corresponde a células asesinas naturales o "Natural Killer" (NK). Existen también abundantes macrófagos, células dendríticas, y linfocitos T y B. (4-6).

Con respecto a la tercera hipótesis, se sabe que durante la preñez existen cambios numéricos y funcionales en distintas poblaciones de leucocitos como así también en el perfil de citoquinas (7). Estas alteraciones producirían una disminución de la respuesta inmunológica de la madre para reaccionar hacia los antígenos fetales y contra otros antígenos con los cuales ha estado previamente en contacto. Esto se manifiesta sobre todo en la respuesta celular o citotóxica, mientras que la producción de anticuerpos está aumentada, consecuentemente, las mujeres embarazadas no padecen un estado de inmunosupresión tal que las exponga a un estado de indefensión hacia cualquier agente patógeno, por lo tanto, esta hipótesis tampoco se cumple.

La última hipótesis planteaba que hubiera una "barrera inmunológica", pero en la actualidad se sabe que existe un tráfico bidireccional de células a través de la interfase materno-fetal. Se observan células maternas en el feto y células fetales en la circulación materna. Asimismo se desarrollan anticuerpos anti-antígenos paternos y linfocitos T respondedores (4, 8). Ejemplo de esto es la *enfermedad hemolítica del recién nacido*. Por lo tanto la última hipótesis postulada tampoco es totalmente cierta puesto que la interfase materno-fetal no es una barrera inmunológica.

Entonces, ¿Por qué no somos rechazados inmunológicamente por nuestras madres?. La última hipótesis puede ser modificada por: "**La interfase materno-fetal es un sitio de tolerancia activa hacia el embrión**". Entendemos por Tolerancia Inmunológica a la falta de respuesta frente a un antígeno, ya sea propio o extraño, inducida

por el contacto previo con dicho antígeno. Esta tolerancia puede desarrollarse de un modo natural (autotolerancia) o inducida de manera exógena (Ej: tratamientos anti-alérgicos). Por otra parte, el desarrollo de tolerancia inmunológica tiene una importancia capital en los procedimientos de trasplante de órganos.

En el caso particular del desarrollo de la tolerancia "Materno fetal" existe una serie de factores involucrada, muchos de estos factores son interdependientes y concatenados constituyen una red para evitar el rechazo embrionario.

Actualmente muchos grupos de investigación tratan de develar los mecanismos implicados en la tolerancia específica de la madre hacia el embrión y en el presente trabajo de revisión se detallan algunos de los hallazgos realizados.

Dentro de los factores que regulan el sistema inmunológico materno durante el embarazo, existen algunos que juegan un papel crucial para generar una respuesta tolerogénica. Dentro de ellos se detallarán: la acción de hormonas sexuales femeninas (estrógenos y progesterona), la producción de citoquinas, la generación de anticuerpos, la acción de proteínas inmunomoduladoras inducidas por progesterona, el papel del antígeno HLA-G, la actividad de ciertas células inmunocompetentes tales como los linfocitos T reguladores, las células NK y las células dendríticas; el efecto de la apoptosis y la actividad de los macrófagos, el metabolismo del triptofano y el transporte de hierro por parte del embrión, los mecanismos inhibitorios del Complemento, y la expresión de Anexinas.

#### **Acción de las hormonas sexuales femeninas sobre el sistema inmunológico**

El sistema endocrino y el sistema inmunológico están estrechamente vinculados y las hormonas esteroideas y las citoquinas actúan como mediadores en sus inte-

racciones mutuas. Las células inmunes y las células endocrinas pueden sintetizar y expresar receptores para citoquinas y hormonas y a su vez, dichas moléculas pueden estimular o suprimir la actividad de estas células.

En condiciones normales, en las mujeres y en hembras de otras especies, los estrógenos y la progesterona, favorecen la predominancia de la respuesta inmune humoral. Este hecho resulta beneficioso para la gestación. Contrariamente, la testosterona haría que en los machos predomine la respuesta inmune celular (9, 10):

Los *estrógenos* estimulan la producción de anticuerpos, alteran la actividad de los linfocitos T periféricos aumentando los linfocitos T reguladores (Treg), reducen el número y la actividad de células NK, aumentan el número y la actividad de granulocitos y macrófagos, reducen la estimulación osteoclástica mediante la disminución de interleuquina 1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), disminuyen la presentación antigénica por parte de las células dendríticas y aumentan las citoquinas tipo Th2 (9, 11, 12).

La *progesterona* inhibe la activación y proliferación linfocitaria, aumenta la apoptosis de linfocitos T y B, inhibe la generación y la actividad de células killer-T, inhibe la producción de anticuerpos, favorece la sobrevivencia de injertos y reduce las citoquinas de tipo Th1 (7, 13). Además induce la producción del Factor Bloqueante Inducido por Progesterona (PIBF), la Proteína endometrial asociada a Progesterona 14 (PP14) también denominada Glicodelina A y Galectina 1 (Gal-1) todos los cuales actúan como factores inmunomoduladores y a los que se hará referencia más adelante (14).

Por lo tanto, el aumento de los niveles de los esteroides sexuales durante la gestación, favorece el no rechazo materno-fetal al inhibir la acción de células citotóxicas y aumentar la producción de citoquinas an-

tiinflamatorias, inclinando la balanza hacia una respuesta tolerogénica.

**Citoquinas**

Actualmente es un hecho aceptado que para el mantenimiento del embarazo, es crucial una función adecuada de la red de citoquinas. En 1993, Wegmann y col. (15) crearon la “hipótesis inmunotrófica” en la que postularon que, durante el embarazo, el equilibrio fisiológico entre las citoquinas Th1/Th2 es cambiado hacia la actividad Th2. A esto lo llamaron el “fenómeno Th2”. Según esa hipótesis, la actividad Th1 es incompatible con un embarazo viable (16).

Unas de las principales células productoras de citoquinas son los linfocitos T CD4 o “colaboradores” (*helper*). A partir de un precursor Th0 se pueden distinguir dos subpoblaciones llamadas Th1 y linfocitos Th2. Los linfocitos T CD4 Th1 producen principalmente las interleuquinas (IL) IL-1, IL-2,

IL-12, IL-15, IL-18, interferón-gamma (IFN $\gamma$ ) y TNF $\alpha$ , mientras que los Th2 son fuente de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 y factor estimulante de colonias granulocítico-macrofágicas (GM-CSF) (17, 18).

En condiciones normales estas citoquinas se hallan en equilibrio pero, dependiendo del tipo de estímulo, se promoverá una u otra respuesta. Ambos grupos de citoquinas son inhibitorias entre sí, por ejemplo las Th1 inhibirán, mediante la liberación INF $\gamma$  la vía Th2, y, a la inversa, los linfocitos Th2, mediante la liberación de IL-10, pueden inhibir la vía Th1 (Fig. 1).

Como se ha dicho anteriormente las hormonas femeninas aumentan la respuesta de citoquinas tipo Th2 y disminuyen la de citoquinas tipo Th1 (7).

Durante el embarazo, una fuente adicional de citoquinas Th1 y Th2 son el epitelio y el tejido conectivo decidual, el cito sinciotrofoblasto, el corion, el amnios y las células de Hofbauer. Estas citoquinas

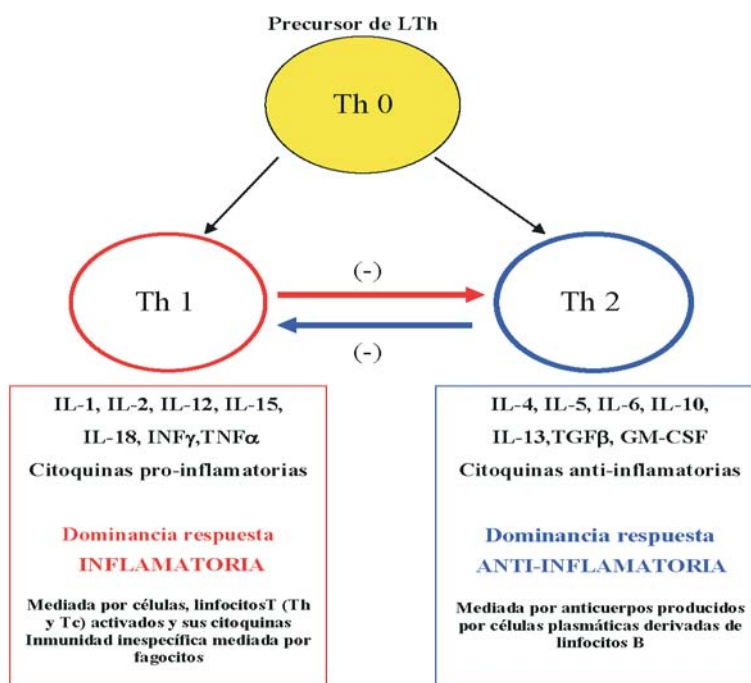


Fig. 1. Células y citoquinas Th1 y Th2. Las citoquinas tipo Th1 inducen una respuesta inmune inflamatoria mientras que las citoquinas tipo Th2 favorecen la respuesta anti-inflamatoria. Ambos tipos de citoquinas se interregulan.

participan en la inducción de la tolerancia materno-fetal, regulan la inmunidad local contra agentes infecciosos y modulan la producción hormonal placentaria y el remodelado del tejido endometrial durante la invasión trofoblástica (18).

La IL-12 actúa como citoquina pivote en la inducción hacia Th1 y su ausencia en el endometrio peri-implantatorio impediría la diferenciación de linfocitos Th0 hacia linfocitos Th1. Además, la presencia de IL-4 favorecería la diferenciación de linfocitos Th0 hacia linfocitos Th2, anulando la respuesta inmune citotóxica, y esto podría ser perpetuado por la presencia de IL-6 e IL-10 (19, 20).

Ha sido observado que en mujeres con abortos recurrentes, a nivel endometrial, hay aumento de IL-12, lo cual actuaría como estímulo para la diferenciación de linfocitos Th0 hacia Th1 (19). Asimismo en mujeres embarazadas, pero con historia previa de aborto recurrente, se observó un aumento en los niveles séricos de IFN- $\gamma$ , en comparación con mujeres con embarazos normales (20).

En el año 2005 el "fenómeno Th2" postulado por Wegmann fue replanteado por Wilczynski (18), ya que existe evidencia de que, tanto en el momento de la implantación como en el parto, la balanza se inclinaría hacia las citoquinas Th1.

Dentro de las citoquinas más importantes que se producen durante la implantación están las del sistema de la interleucina 1 (IL-1), compuesto por IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , el antagonista del receptor (IL-1ra) y los receptores IL-1r tI y tII.

En 1992 Baraño y col. demostraron que los embriones humanos producían IL-1 y que aquellos embriones con una producción deficiente de esta citoquina no implantaban (21, 22). Simultáneamente el grupo de Polan y Simón presentaban sus hallazgos en cuanto a la expresión de receptores de IL-1 tipo I en el endometrio secretorio (23,

24). Posteriormente otros grupos demostraron que en blastocistos humanos existen todos los componentes del sistema IL-1 (25-27).

Se postula que el sistema de la IL-1 permite una comunicación entre el blastocisto con el endometrio uterino en una manera parácrina, aumentando la receptividad endometrial mientras que el blastocisto todavía está en el camino hacia el útero (28). En el ratón, la unión de IL-1 $\beta$  al IL-1r tipo I es esencial para la implantación, habiéndose demostrado que el bloqueo del receptor con el IL-1ra es suficiente para impedir el anclaje embrionario (29). Además, en endometrio humano se ha detectado un aumento en la expresión de los IL-1r Tipo I y presencia de ARNm de IL-1 $\beta$  en la fase luteal media.

Otra citoquina fundamental para la implantación embrionaria es el factor inhibitorio de leucemias (LIF). El LIF es una citoquina proinflamatoria que regula la proliferación y diferenciación *in vitro* de células de los linajes hematopoyéticos, embrionarios, osteoblásticos, nerviosos y endoteliales. Se ha demostrado en ratones transgénicos que el LIF también tiene un importante papel en el proceso de la implantación (30). Durante el período preimplantacional el LIF es expresado por el endometrio y el blastocisto. Particularmente en el endometrio, las concentraciones más altas de LIF se producen en la ventana de implantación (31).

Por otra parte, los experimentos con ratones *knock out* han demostrado que la expresión materna de LIF es indispensable para la implantación. En las ratonas que carecen del gen para el LIF no se produce la implantación embrionaria. Sin embargo, los embriones de ratones *knock out* para LIF, implantan si las hembras son inyectadas con LIF exógeno o bien si son transferidos al útero de ratonas normales (32, 33).

La expresión de LIF coincide con los niveles elevados de estrógenos, y se puede



inducir su producción por la administración de estrógenos exógenos. Además en el primer trimestre del embarazo, se detecta ARNm de LIF en decidua y placenta, no obstante la expresión es más baja que la del endometrio secretor, lo cual sugiere que la expresión de LIF no es dependiente de hormonas durante el embarazo (32).

Al igual que sucede con la IL-1, el LIF no sólo afecta al endometrio. Hay evidencia de que LIF también afecta al blastocito humano. El blastocito expresa el receptor para el LIF (LIF-R). Aunque aún no se conoce la función exacta del LIF-R “embrionario”, se presume que el LIF media señales entre las células inmunocompetentes de la decidua y el trofoblasto. Además, la comunicación entre el embrión y el endometrio es bidireccional. El blastocito también produce LIF, de tal modo que ejercería un control sobre el endometrio materno (26, 31).

La predominancia de las citoquinas Th1 en el momento de la implantación favorecería la presentación de los antígenos paternos, a la actividad de las células NK y las células Killer activadas por linfoquinas (LAK), lo que evitaría la penetración trofoblástica excesiva (16).

Asimismo, recientemente, se ha demostrado que durante el parto normal o prematuro, existe un aumento de citoquinas como IL-12, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-8 e IL-12, lo cual favorecería la activación de macrófagos, neutrófilos y células NK. Estas citoquinas producirían un aumento de prostaglandinas (que facilitarían las contracciones uterinas) y de metaloproteasas (que facilitarían el desgarro y dilatación cervical) (16, 19). Estas observaciones llevaron a modificar el paradigma de la respuesta Th2 en el embarazo, hacia el concepto de “cooperación Th1-Th2”. Así Wilczynski, postuló que las citoquinas Th1 servirían para inducir la respuesta Th2, asemejándose al equilibrio del yin y del yang que postulara Lao Tse en el Tao Te Ching (18).

Una de las patologías de la gestación en donde se observan alteraciones en la respuesta inmunológica es en la preeclampsia. La preeclampsia es una complicación de la gestación también llamada toxemia del embarazo o hipertensión inducida por el embarazo y asociada a elevados niveles de proteínas en la orina. El signo más notorio de esta enfermedad es una elevada presión arterial que puede desembocar en una eclampsia, con daño al endotelio materno, riñones e hígado.

El origen de la preeclampsia sería una placenta con implantación poco profunda, que se torna hipóxica, ocasionando una reacción inmune caracterizada por la secreción aumentada de mediadores de la inflamación desde la placenta y que actúan sobre el endotelio vascular (34). Esta placentación deficiente se debería a la incapacidad del citotrofoblasto para adquirir un fenotipo invasivo y la remodelación de las arterias espiraladas uterinas. Uno de los principales problemas observados en la preeclampsia es una desviación hacia un perfil de citoquinas Th1. En la preeclampsia, se hallaron altas concentraciones de IFN- $\gamma$  y TGF- $\beta$ , las cuales retardarían la migración de citotrofo blastos (35).

En la actualidad se sabe que también existen otros patrones de secreción de citoquinas dados por los linfocitos Th3, productores del factor de crecimiento y transformación beta (TGF $\beta$ ) y los linfocitos T reguladores de tipo 1 o adaptativos (Tr1) que producen IL-10. Ambos tipos de células y citoquinas estarían regulando la respuesta inmune materna hacia la tolerancia embrionaria, por lo tanto el paradigma Th1/Th2 ha sido rectificado y hoy se considera que existe un tipo de regulación Th1/Th2/Th3/Tr1 (36).

Más recientemente se han identificado a los linfocitos Th17 los cuales secretan otra citoquina altamente pro-inflamatoria como es la IL-17. Esta promueve el recluta-

miento de leucocitos neutrófilos en infecciones agudas o en heridas y la producción de GM-CSF, IL-6 y TNF- $\alpha$ , las cuales sustentan a los linfocitos Th17 (los cuales participan en las lesiones crónicas de enfermedades inflamatorias autoinmunes o causadas por microorganismos). Estas citoquinas también activan a células epiteliales, endoteliales, estromales y fibroblastos que a su vez producen más mediadores como IL-1, IL-6, TNF-alfa, iNOS, metaloproteinasas y quimiocinas que inducen inflamación.

Se ha observado que la proporción de células Th17 en la sangre periférica y en la decidua de pacientes con abortos recurrentes de origen desconocido, fue significativamente mayor en comparación con las mujeres normales durante el primer trimestre de embarazo. Además se halló una relación inversa entre los Th17 y los Treg de sangre periférica y decidua en pacientes abortadoras. Las pacientes con abortos recurrentes presentaron también un aumento de IL-17 y IL-23 en sangre periférica y en decidua. Se postula que las células Th17 pueden jugar un papel importante en el rechazo de antígenos embrionarios y por lo tanto pueden ser perjudiciales para el mantenimiento del embarazo (37-39).

Un tema que merece un capítulo aparte y por ello no será tratado extensamente en este trabajo de revisión, es la función de las quimiocinas durante la gestación y el parto. Se sabe que en el útero, la progesterona estimula la expresión de mRNA de las quimiocinas CXCL10/IP-10, CX3CL1/Fractalquina y CCL2/MCP-1 en células del estroma, resultando en un aumento de la capacidad migratoria de las células NK periféricas durante la preñez (40). Además, en un trabajo de revisión Gómez-López y col. (41) han compilado los estudios referidos particularmente al papel de las quimiocinas en la rotura de las membranas fetales a término y prematuras, sugiriendo que estos compuestos desempeñan un papel importante

en otros eventos tales como la dilatación del cuello uterino y las contracciones del miometrio.

### Anticuerpos

Durante el embarazo la predominancia de la respuesta Th2/Th3/Tr1 resulta en un aumento de la respuesta inmune tolerogénica. Se favorece la producción de anticuerpos y en particular, para el mantenimiento del embarazo viable, resulta importante el mayor título de *anticuerpos bloqueantes o asimétricos*.

Estos anticuerpos se denominan así pues tienen un grupo glicosilado (predominantemente manosa) en uno de los fragmentos F(ab) de la molécula de IgG. Debido a esto el fragmento F(ab) no puede unir grandes ligandos y de este modo el anticuerpo se une de manera monovalente al antígeno y sólo lo bloquea (42). Por lo tanto estos anticuerpos estarían protegiendo al embrión del ataque materno.

Además, como en toda respuesta inmunológica, se estarían generando anticuerpos (Ac) anti-idiotipo frente a los anticuerpos que se van formando. Así frente al idiotipo del Ac-1 se formará el Ac-2, frente al idiotipo del Ac-2 se producirá el Ac-3 y así sucesivamente (43). Estas redes idiotípicas actuarían regulando la respuesta inmunológica, de acuerdo a lo propuesto por Niels Jerne quien obtuviera el premio Nobel en 1984 por este descubrimiento.

### Proteínas inmunomoduladoras

**Proteína endometrial asociada a progesterona (PP14) o Glicodelina A:** Esta proteína es producida y secretada por las células del tejido glandular del endometrio, del ovario, de mama, la médula ósea y vesículas seminales. Aumenta su producción a partir del período preimplantacional y alcanza su pico durante el primer trimestre de embarazo. Se sabe que impide el reconocimiento y unión del ovocito con el esper-



matozoide por lo tanto si se produjera un pico de esta proteína cercano a la ovulación, esto impediría la fecundación.

También se sabe que impediría el reconocimiento del antígeno por parte de las células inmunocompetentes. Además inhibiría, la proliferación de linfocitos, la producción de citoquinas tipo Th1, la actividad de LT citotóxicos y de células NK (44).

**Factor bloqueante inducido por progesterona (PIBF):** Es producido por los linfocitos de las mujeres embarazadas, en los cuales aumenta la expresión del receptor para progesterona.

Se sabe que el PIBF tiene la capacidad de incrementar la producción de citoquinas Th2 *in vitro* (IL-3, IL-4, IL-10) y bloquear la secreción de IL-12 por los linfocitos periféricos de mujeres embarazadas (45).

Inhibe la fosfolipasa A2 y por lo tanto inhibe la síntesis de prostaglandinas y leucotrienos, disminuyendo la producción de IL-12 que es una citoquina capaz de activar a las Th1 y aumentar la actividad de células NK. Como resultado final, se favorece la producción de citoquinas tipo Th2.

Druckmann y Druckmann (46) han propuesto un mecanismo de regulación inmunológica que se produciría durante la gestación. El mismo postula que niveles altos de progesterona inducen la producción de PIBF con la consecuente generación de citoquinas Th2 que favorecen el embarazo, mientras que concentraciones bajas de progesterona no gatillan la producción de PIBF y se producen citoquinas Th1 que llevarían al aborto.

**Galectinas:** Otras proteínas que son cruciales en la respuesta inmunológica son las galectinas. La galectinas (Gal) son proteínas que se unen a glicanos de la superficie celular. Dentro de las galectinas, la Gal-1 juega un papel fundamental como inmunomoduladora puesto que actúa por distintos mecanismos: regula la proliferación y supervivencia de linfocitos T efectoras, favo-

rece el recambio leucocitario, bloquea la secreción de citoquinas proinflamatorias Th1 y aumenta las citoquinas Th2.

Se ha demostrado la expresión de Gal-1 en endometrio en fase secretoria y en tejido decidual y ha sido comprobada una interregulación entre esta proteína y las hormonas sexuales femeninas, ya que tanto el estradiol como la progesterona aumentan la producción de Gal-1 (47) y Gal-1 induce la producción de progesterona (48, 49).

En ratonas preñadas y sometidas a estrés, el tratamiento con progesterona produjo un aumento de los niveles de Gal-1. Asimismo, si estas ratonas eran tratadas con Gal-1 se producía un aumento en los niveles de progesterona, de PIBF, IL-10 y en el número de linfocitos T reguladores (49).

#### HLA-G

Los antígenos HLA-G son moléculas no clásicas dentro de los antígenos del CMH de clase I. Se describieron inicialmente como unos HLA diferentes, los cuales se expresaban selectivamente en la interfase materno-fetal (en las células del citotrofoblasto) observándose además que estas moléculas se unían a los receptores inhibitorios de las células NK uterinas, contribuyendo de tal modo a la tolerancia materno-embionaria (50).

A diferencia de las otras moléculas de los HLA de clase I, los HLA-G se caracterizan por su polimorfismo mínimo (9 alelos), por su distribución restringida a ciertos tejidos, y por sus características biológicas que llevan a tolerancia inmunológica. Existen siete isoformas, 4 de membrana (HLA-G1 a G4) y 3 formas solubles (G5 a G7), todas se producen por empalme alternativo del transcripto primario de HLA-G. Además existen otras formas solubles llamadas sHLA-G (por shed HLA-G) que se pueden generar por la proteólisis de los HLA-G de membrana (51).

Existe una fuerte evidencia que los HLA-G juegan un importante papel en la inmunosupresión materno-fetal, dado que por diferentes mecanismos los HLA-G son capaces de regular la actividad de células NK, linfocitos T y células presentadoras de antígenos (CPA) (52, 55). Así por ejemplo: Inhiben la actividad citotóxica de células NK y linfocitos T (56), inhiben la proliferación de estas células a través de receptores inhibitorios ILT-2, e inducen su apoptosis vía CD8, inducen células NK y linfocitos T supresores y CPA tolerogénicas. Asimismo, aumentan la expresión de receptores inhibitorios en NK, linfocitos T y CPA, inhiben la presentación antigénica por la CPA vía el receptor inhibitorio ILT4, favorecen la producción de citoquinas Th2 por los linfocitos T (57) e inducen linfocitos Tr1 (productores de IL-10).

La IL-10 es esencial no sólo para que se produzca la supresión de las células citotóxicas por parte de las Tr1, sino también para que estas Tr1 puedan diferenciarse. Además existe una subpoblación de CD, las CD-10 que se caracterizan por expresar grandes cantidades de HLA-G, receptores ILT4 y por producir IL-10. Se ha comprobado que estas CD-10 son capaces de inducir Tr1 aloespecíficos a través de una vía ILT4/HLA-G dependiente de IL-10 (58). Datos recientes han demostrado que la IL-10, el LIF, TGF  $\beta$  así como los estrógenos y la progesterona aumentan la expresión de estos antígenos (51, 59).

Finalmente, el papel de HLA-G como molécula tolerogénica dominante en la tolerancia materno-fetal, está sustentado por la asociación entre la expresión disminuida de HLA-G y desórdenes del embarazo tales como abortos espontáneos y preeclampsia recurrentes. Además se demostró que la expresión de las moléculas de sHLA-G por parte del embrión era fundamental para la implantación y se ha propuesto a los HLA-G

como moléculas de señalización implicadas en el desarrollo embrionario (50, 52, 55).

### Células inmunocompetentes

**Linfocitos T reguladores (Treg):** Como se describió anteriormente, la respuesta inmunológica del embarazo en la actualidad se explica por el sistema Th1/Th2/Th3/Tr1. Los linfocitos Th3 (que producen TGF- $\beta$ ), y los linfocitos Tr1 (que producen IL-10), desempeñan un papel muy importante en la regulación del sistema inmunológico (60).

La mayoría de las linfocitos Treg (CD4+CD25+), que se encuentran en sangre se origina en el timo y a estas células se las conoce como linfocitos Treg "naturales". También, existen otros linfocitos T reguladores que se originan en tejidos periféricos. Los que mejor se conocen son los linfocitos T reguladores "inducibles" (Tr1) y las Th3.

Los Tr1 se diferencian a partir de CD4+CD25- tras la presentación del antígeno por células dendríticas inmaduras en presencia de citoquinas como la IL-10. Se localizan en tejidos inflamados y realizan su función supresora de una forma no dependiente del antígeno, a través de citoquinas supresoras como IL-10 y TGF- $\beta$ , mientras que las Treg se sitúan en los órganos linfoides periféricos y parecen actuar de forma antígeno específica a través de señales dependientes del contacto celular y de la secreción de IL (58, 60).

Los linfocitos Th3 son células productoras de TGF $\beta$  con un funcionamiento muy similar al de las Tr1. Se las ha descrito en las placas de Peyer y los ganglios mesentéricos y se les considera como las causantes de los mecanismos de tolerancia oral.

Tanto los Th3 como los Tr1 serían fundamentales para el establecimiento de la tolerancia materna hacia los antígenos embrionarios. Se ha reportado existencia de

Treg en ratones y humanos (61), y se ha demostrado que estas linfocitos Treg inducen tolerancia específica hacia los antígenos paternos en la preñez murina.

En mujeres con un embarazo normal los linfocitos Treg se hallan aumentados en sangre, tejido decidual y nodos linfáticos del útero. Contrariamente, mujeres con disminución de Treg en sangre periférica tuvieron abortos espontáneos (62-65).

Se comprobó en ratones que la exposición al líquido seminal durante la cópula promovía una tolerancia a los aloantígenos paternos probablemente mediada por la proliferación de Treg específicos hacia ciertos componentes del plasma seminal y de la esperma (66).

También se ha demostrado que las concentraciones fisiológicas de estradiol presentes en el embarazo promueven la proliferación de linfocitos Treg (67).

Las poblaciones de linfocitos Treg se pueden amplificar *in vitro* o *in vivo* para propósitos terapéuticos. También, se pueden emplear células dendríticas para aumentar el número y la funcionalidad de los linfocitos Treg. Por lo tanto, es posible pensar en el desarrollo de terapias con linfocitos Treg para, en un futuro, tratar la infertilidad y otras patologías reproductivas. Para ello se requerirá un mayor conocimiento de los antígenos, citoquinas y hormonas que regulan estas células (63).

**Células NK:** Las células NK constituyen entre el 5 y el 15% de los linfocitos circulantes y se ubican preferentemente en el bazo, los pulmones, el tracto gastrointestinal, el hígado y la decidua uterina. En particular, las células NK uterinas (uNK) son los leucocitos más abundantes del endometrio durante el período preimplantacional y en la preñez temprana en mamíferos (68-70).

Las células NK se clasifican en cuanto a su expresión de los marcadores de superficie CD16 y CD56. Así, en sangre periférica, la principal población de NK expresa

CD16+CD56<sup>dism.</sup> (10-15% de los linfocitos), mientras que existe un 0,5% de NK CD16+CD56<sup>Brillante</sup>. Estas dos poblaciones tienen distintas funciones: las NK CD16-CD56<sup>Brillante</sup> tienen aumentada su capacidad de producir citoquinas mientras que, las NK CD16+CD56<sup>dism.</sup>, se especializan en su función asesina de linfocitos Tumorales y células infectadas por virus. La función "asesina" la ejercen mediante ciertos receptores activantes específicos o receptores naturales de citotoxicidad (natural cytotoxicity receptors = NCRs) (71).

Las uNK difieren de las NK de sangre periférica (pNK) por presentar una alta expresión del marcador CD56 y una nula expresión de CD16 (CD16-CD56<sup>Brillante</sup>). Son grandes linfocitos granulados, y secretan citoquinas proangiogénicas que regulan el desarrollo placentario y el establecimiento de embarazo. La disminución de uNK se ha asociado a abortos recurrentes, en donde se ha observado además un aumento de células NK CD16+CD56<sup>dism.</sup> y una disminución de NK CD16-CD56<sup>Brillante</sup> en fase secretoria (71).

Las células NK humanas también se diferencian en poblaciones con distintos patrones de secreción de citoquinas análogamente a lo observado en linfocitos Th. Las células de NK inmaduras o NK2 producen IL-5 e IL-13. En presencia de IL-4, las NK2 se diferencian en NK0 y producen citoquinas tipo 1y tipo 2 (IL-13 e INF $\gamma$ ). Finalmente maduran a células NK1 que producen INF- $\gamma$  y son totalmente citotóxicas (72). Asimismo, se han descrito NK3 que producen TGF $\beta$  y más recientemente NKr1 que producen IL-10 (71).

Datos recientes demuestran que el paradigma Th1/Th2/Th3/Tr1 se puede adaptar también a las células NK como NK1/NK2/NK3/NKr1 para las células NK periféricas y deciduales (71).

Se ha observado que en sangre periférica de mujeres no embarazadas, las principa-

les poblaciones de células NK eran NK1 productoras de IFN- $\gamma$ . En mujeres con embarazo temprano aumentaban significativamente las células NKr1 productoras de IL-10, y estas células se hallaban significativamente disminuidas en casos del aborto espontáneo (73).

En decidua se hallaron principalmente células NK3 productoras de TGF- $\beta$  y muy escasas NK1. Además, en abortos espontáneos las NK3 estaban disminuidas con respecto a lo observado en embarazos normales. Por otra parte tanto en decidua como en sangre periférica se observaron raramente células NK2 productoras de IL-4-, IL-5 y IL-13.

Estos datos apoyan la hipótesis NK1/NK2/NK3/NKr1, así tanto las NKr1 en sangre periférica como las NK3 en decidua pueden desempeñar funciones importantes en el mantenimiento del embarazo por la regulación de la función inmune materna (71).

Finalmente, estudios recientes realizados por investigadores argentinos, han revelado que la progesterona es capaz de inducir apoptosis e inhibir la producción de IFN- $\gamma$  en las NK que expresan receptores para dicha hormona (74). Estos datos aportan una vía más de regulación de la respuesta inmune materna para evitar el rechazo hacia el embrión.

**Células dendríticas:** Las células dendríticas (CD) son presentadoras de antígenos que responden a señales recibidas de microambiente tisular. En el tejido epitelial y el tejido conjuntivo de las mucosas, las CD pueden adquirir fenotipos únicos que son necesarios para regulación de las funciones inmunes locales específicas, como son la tolerancia a los antígenos presentes en los alimentos, tolerancia a los antígenos respiratorios, y protección contra organismos patógenos. Los fenotipos de las CD dependerán del tipo de citoquinas y mediadores antiinflamatorios producidos por las células epiteliales y presentes en su entorno

tanto en condiciones fisiológicas como en respuesta a las señales microbianas (75).

Ha sido propuesto que las CD de la decidua serían los guardianes del sistema inmunológico de la mucosa uterina e inducir tolerancia bajo condiciones fisiológicas normales. Las CD pueden también responder a los estímulos inflamatorios para permitir la activación de los linfocitos T y producir una respuesta inmune protectora cuando es necesario.

Es bien sabido que la exposición a agentes tales como prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) (76) induce la maduración de las CD mieloides a CD inductoras de Th2, mientras que otras citoquinas, tales como el TGF $\beta$ , promueven la diferenciación a CD tolerogénicas (77). Ambas, PGE<sub>2</sub> y TGF $\beta$ , están normalmente presentes en la interfase materno-fetal y ambas pueden influir sobre las CD hacia la repuesta tolerogénica.

En un modelo hipotético propuesto por Blois y col. (78), de cómo las CD regulan la respuesta inmunológica hacia el embrión se postula que, durante un embarazo normal, los estímulos tolerogénicos dados por los trofoblastos, la progesterona, la PGE<sub>2</sub>, la vitamina D, y las células en el ambiente (por ej. células NK y macrófagos), promueven la activación parcial de las CD residentes. Esto da lugar a la producción de citoquinas anti-inflamatorias como la IL-10, que promueven la inducción de tolerancia materna por mecanismos tales como la producción de citoquinas Th2/Th3 (protectoras del embarazo) y la generación de Treg (que aumentan la supresión del sistema inmune).

Al ocurrir una falla en la gestación se produciría una infiltración masiva de células NK en la interfase materno-fetal y aumentaría la producción de IFN $\gamma$ . Este hecho junto con el aumento de macrófagos productores de TNF $\alpha$ , estimularían la activación de las CD y la producción de citoquinas inflamatorias (particularmente IL-12).

La presentación de antígenos por las CD induciría la producción de citoquinas Th1 por los linfocitos, lo que a su vez resultaría en un aumento de la apoptosis de linfocitos Trofoblásticas causando un aborto (78).

Hasta el momento, se han descrito algunos factores que regulan la respuesta inmunológica materna durante la gestación. Así se ha visto que las hormonas sexuales femeninas favorecen el aumento de las citoquinas Th2/Th3 que a su vez producen un aumento de la respuesta humoral, redundando en un aumento de anticuerpos bloqueantes. Al mismo tiempo el embrión expresa antígenos HLA-G que simultáneamente desencadenan una respuesta Th2/Th3. El

aumento de progesterona induce además la producción de proteínas inmunomoduladoras y la inhibición de células NK. Células inmunocompetentes como los LTreg, las células dendríticas y las NK uterinas favorecen la generación de la tolerancia materno-fetal (Fig. 2).

### Apoptosis y macrófagos

Otro mecanismo por el cual el trofoblasto puede escaparse al ataque de las células inmunes maternas es mediante la expresión de ligandos de inducción de apoptosis como es el ligando de Fas (L-Fas= CD95-L) observado en placentas humanas, en sinciotrofoblasto y en el citotrofoblasto

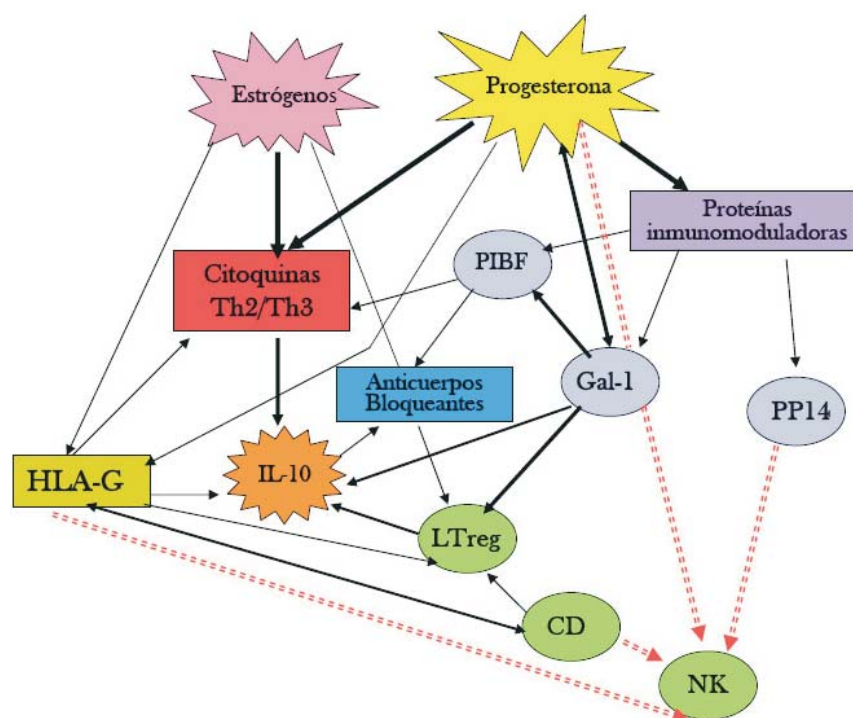


Fig. 2. Interregulación de distintos factores que favorecen la respuesta tolerogénica de la madre hacia el embrión. Las hormonas sexuales femeninas, estrógenos y progesterona estimulan la expresión de los antígenos HLA-G en el embrión que a su vez inducirán la producción de citoquinas TH2/Th3. La progesterona favorece la producción de proteínas inmunomoduladoras tales como el PIBF, la Gal-1 y la PP14, todas ellas también inducirán la producción de citoquinas tipo Th2/Th3, entre ellas IL-10, que favorecerá la producción de anticuerpos bloqueantes. También los Treg, y las CD estimuladas por los HLA-G favorecerán el aumento de IL-10. Asimismo la progesterona en forma directa o indirecta mediante la inducción de PP14, Gal-1 y PIBF disminuye la actividad citotóxica de NK, las cuales también son inhibidas en su actividad por los HLA-G y las CD.



velloso y no-velloso. Este L-Fas se uniría a la molécula Fas (CD95) expresada en los leucocitos deciduales maternos e induciría su apoptosis (79, 80). También la inducción a la apoptosis de las células maternas puede producirse mediante la unión del “ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF” (TRAIL), expresado en placenta, con su receptor (TRAIL-R) expresado en leucocitos maternos. Así, la inducción de la apoptosis mediada por Fas-L-Fas y TRAIL-TRAIL-R también favorecería la supervivencia embrionaria frente al ataque inmunológico materno (81).

Además, durante la implantación embrionaria, la invasión trofoblástica desencadena un aumento de la apoptosis de las células endometriales (82).

En cualquier tejido, las células apoptóticas son eliminadas principalmente por la fagocitosis llevada a cabo por los macrófagos. En endometrio hay macrófagos durante todo el ciclo menstrual pero aumentan en la etapa premenstrual y en decidua son alrededor de 20-30% de los leucocitos presentes. Estas células actúan en la inmunidad no específica y producen diversas citoquinas y prostaglandinas que bloquearían la actividad citotóxica de los linfocitos T y de las células NK.

Se ha demostrado que la presencia de células apoptóticas durante la activación de los macrófagos aumenta la secreción de citoquinas anti-inflamatorias e inmunoreguladoras como la IL-10 y disminuye la secreción de citoquinas pro-inflamatorias como TNF- $\alpha$ , IL-1 y IL-12. Estas citoquinas pueden inhibir la inflamación y contribuir a disminuir la inmunidad mediada por células en condiciones asociadas a aumento de apoptosis, tales como: infecciones virales, preñez, cáncer y exposición a la radiación (83).

De acuerdo a lo postulado por Mor (84, 85) durante el embarazo normal, la implantación del embrión genera una cierta

cantidad de células apoptóticas a nivel del endometrio. La eliminación de estas células apoptóticas promueve, en los macrófagos, la producción de citoquinas antiinflamatorias e inmunosupresoras (como la IL-10) y de factores del crecimiento (como el TGF $\beta$ ), los cuales pueden favorecer la supervivencia del trofoblasto induciendo la expresión de factores anti-apoptóticos y manteniendo la tolerancia inmune.

En embarazos complicados, como los que se producen por una implantación defectuosa del embrión, se produciría un aumento significativo en el número de células endometriales apoptóticas. Esta apoptosis aumentada puede recargar la capacidad eliminadora de los macrófagos y promover la producción de citoquinas pro-inflamatorias que favorecen la muerte del trofoblasto. Por ejemplo, este entorno puede dar lugar a un aumento de la apoptosis del trofoblasto mediada por Fas y a un ataque inmunológico materno (84).

#### **Metabolismo del triptofano y transporte de Fe**

La Indolamina di-oxigenasa (IDO) es una enzima que cataboliza el triptofano. Esta enzima es producida únicamente por el trofoblasto y se ha observado que resulta esencial para la preñez exitosa en ratones. Se ha postulado que la IDO podría actuar catabolizando el triptofano en la placenta, y la disminución o ausencia de este aminoácido implica la pérdida de la actividad de linfocitos T, protegiendo al embrión del ataque citotóxico materno (86).

Además, el trofoblasto expresa receptores de transferrina para el transporte del hierro hasta el embrión desde el plasma sanguíneo materno. El receptor de transferrina actúa secuestrando el hierro de los espacios intervellosos y de esto resulta en una restricción de hierro para los linfocitos maternos, los que de este modo disminuyen su proliferación y actividad (20).



### Factores inhibitorios del complemento

Uno de los primeros mecanismos que se activan en la respuesta inmunológica inespecífica para matar a las células extrañas o cancerosas, consiste en la activación del sistema del complemento. El sistema del complemento está formado por una serie de alrededor de 18 proteínas plasmáticas y de al menos 10 proteínas de membrana. La activación de estas proteínas se produce a través de una cascada de reacciones proteolíticas que da por resultado la formación de un complejo multiproteico llamado complejo de ataque a membrana (CAM). El CAM crea un agujero en la célula blanco, que entonces muere rápidamente.

Así pues, el reconocimiento de antígenos paternos en la superficie del trofoblasto podría activar la cascada del complemento, dando por resultado la muerte de células embrionarias. Sin embargo, la cascada de reacciones que daría lugar al CAM se encuentra detenida, a diferentes niveles, por la expresión de tres proteínas de membrana de los linfocitos trofoblásticos, que se hallan dentro de los conocidos como *Inhibidores del complemento*. Una de ellas actúa bloqueando los puntos de enlace entre el complemento y los anticuerpos. Esta es la proteína cofactor de membrana (PCM= CD46) que es cofactor de proteólisis de C3b (y en menor medida de C4b) (87). Otra es el factor acelerador de decaimiento (FAD=CD55) que acelera la disociación de las convertasas de C3 (88) y por último, la Protectina (CD59), que bloquea la unión de C8 a C9, actuando como inhibidor del CAM (87).

Estas moléculas tienen efectos sistémicos. En la placenta, podrían reducir la capacidad del complemento de matar a los linfocitos trofoblásticos portadores de los antígenos paternos. Se ha observado que mecanismos similares son empleados por determinados tumores para escapar al control de su hospedador (89).

### Anexinas

Las anexinas son un grupo de proteínas que actúan como reguladores e inhibidores de la coagulación (90). Su acción es calcio dependiente y se unen a fosfolípidos cargados negativamente haciéndolos inaccesibles a los factores de coagulación (91).

En la placenta la anexina II se ha encontrado que inhibe la linfoproliferación y la secreción de IgG e IgM maternas, protegiendo al embrión (92).

La anexina V o proteína anticoagulante de placenta (PAP-1) *in vitro* inhibe el complejo protrombinasa. Esta anexina V sería necesaria para mantener la integridad placentaria ya que al competir con los fosfolípidos, regula la coagulación en la interfase materno-fetal (93, 94).

### CONCLUSIONES

En el presente trabajo se han descrito una serie de factores involucrados en el desarrollo de la tolerancia materno-fetal, la mayoría de los cuales son interdependientes y constituyen una trama para evitar el rechazo embrionario. Aquí se han expuesto el efecto de las hormonas sexuales femeninas sobre el sistema inmunológico, el cambio del perfil de citoquinas, la generación de proteínas inmunomoduladoras y de anticuerpos bloqueantes, el efecto de la expresión de los HLA-G y el papel de algunas células inmunocompetentes como los linfocitos Treg, las CD y las células "Natural Killer". Asimismo se han descrito otras vías por las cuales el embrión se defiende del ataque inmunológico materno como la inducción de la apoptosis en el endometrio y en leucocitos, la captación de hierro materno y el catabolismo del triptofano, la inhibición del sistema del complemento y la expresión de anexinas. Finalmente, resta señalar que la inmunotolerancia de la madre hacia el embrión está ya establecida a las 10 semanas de gestación, "y se mantiene de

por vida”, favoreciendo el establecimiento de nuevos embarazos del “mismo padre”. El rechazo inmunológico se produciría hacia el final del embarazo inducido por los cambios hormonales (95).

### REFERENCIAS

1. **Medawar PB.** Some immunological and endocrinological problems raised by evolution of viviparity in vertebrates. 1953; 7:320. *Symp Soc Exp Biol* 1953; 7:320-338.
2. **Billingham RE, Brent L, Medawar PB.** Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature* 1953; 172(4379):603-606.
3. **Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF, Baird DD, Schlatterer JP, Canfield RE, Armstrong EG, Nisula BC.** Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med* 1988; 319(4):189-194.
4. **Mellor AL, Munn DH.** Immunology at the maternal-fetal interface: lessons for T cell tolerance and suppression. *Annu Rev Immunol* 2000; 18:367-391.
5. **Gomez-Lopez N, Guilbert LJ, Olson DM.** Invasion of the leukocytes into the fetal-maternal interface during pregnancy. *J Leukoc Biol* 2010; 88(4):625-633.
6. **Veenstra van Nieuwenhoven AL, Heineman MJ, Faas MM.** The immunology of successful pregnancy. *Hum Reprod Update* 2003; 9(4):347-357.
7. **Bouman A, Heineman MJ, Faas MM.** Sex hormones and the immune response in humans. *Hum Reprod Update* 2005; 11(4):411-423.
8. **Kammerer U, von Wolff M, Markert UR.** Immunology of human endometrium. *Immunobiology* 2004; 209(7):569-574.
9. **McMurray RW, Suwannaroj S, Ndebele K, Jenkins JK.** Differential effects of sex steroids on T and B cells: modulation of cell cycle phase distribution, apoptosis and bel-2 protein levels. *Pathobiology* 2001; 69(1):44-58.
10. **Bobek S, Mika M, Niezgodá J, Pierzchala K.** The effect of sex hormones on total immunoglobulin level in the serum of moulting hens. *Zentralbl Veterinarmed B* 1985; 32(8):633-635.
11. **Jansson L, Holmdahl R.** Estrogen-mediated immunosuppression in autoimmune diseases. *Inflamm Res* 1998; 47(7):290-301.
12. **Bird MD, Karavitis J, Kovacs EJ.** Sex differences and estrogen modulation of the cellular immune response after injury. *Cell Immunol* 2008; 252(1-2):57-67.
13. **Raghupathy R, Al Mutawa E, Al Azemi M, Makhseed M, Azizieh F, Szekeres-Bartho J.** Progesterone-induced blocking factor (PIBF) modulates cytokine production by lymphocytes from women with recurrent miscarriage or preterm delivery. *J Reprod Immunol* 2009; 80(1-2):91-99.
14. **Baraño RI.** Hormonas sexuales y respuesta inmunológica. *Rev Soc Arg Endocrinol Ginecol Reprod (SAEGRE)* 2009; XVI(2):20-30.
15. **Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR.** Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today* 1993; 14(7):353-356.
16. **Chaouat G.** Innately moving away from the Th1/Th2 paradigm in pregnancy. *Clin Exp Immunol* 2003; 131(3):393-395.
17. **Raghupathy R.** Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. *Immunol Today* 1997; 18(10):478-482.
18. **Wilezynski JR.** Th1/Th2 cytokines balance-yin and yang of reproductive immunology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2005; 122(2):136-143.
19. **Lim KJ, Odukoya OA, Ajjan RA, Li TC, Weetman AP, Cooke ID.** The role of T-helper cytokines in human reproduction. *Fertil Steril* 2000; 73(1):136-142.
20. **De los santos JM, De los santos MJ, Remohí J, Pellicer A, Serra V.** Mecanismos inmunológicos de las gestación. *Rev Iberoamer Fertil* 2005; 22:213-223.
21. **Baraño RI, Piazza A, Rumi LS, Polak DF.** Determination of IL-1 and IL-6 levels in human embryo culture-conditioned media. *Am J Reprod Immunol* 1997; 37(2):191-194.

22. **Baraño RI, Piazza A, Rumi LS, Polak de Fried E.** Interleukin-1 beta levels in human embryo culture supernatants and their predictive value for pregnancy. *Early Hum Dev* 1997; 48(1-2):71-80.
23. **Simon C, Piquette GN, Frances A, Westphal LM, Heinrichs WL, Polan ML.** Interleukin-1 type I receptor messenger ribonucleic acid expression in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Fertil Steril* 1993; 59(4):791-796.
24. **Simon C, Piquette GN, Frances A, Polan ML.** Localization of interleukin-1 type I receptor and interleukin-1 beta in human endometrium throughout the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77(2):549-555.
25. **Simon C, Moreno C, Remohi J, Pellicer A.** Cytokines and embryo implantation. *J Reprod Immunol* 1998; 39(1-2):117-131.
26. **Castro-Rendon WA, Castro-Alvarez JF, Guzman-Martinez C, Bueno-Sanchez JC.** Blastocyst-endometrium interaction: intertwining a cytokine network. *Braz J Med Biol Res* 2006; 39(11):1373-1385.
27. **Del Pup L, De Angeli S, Conconi MT, Grandi C, Gamba PG, Parnigotto PP, Nussdorfer GG.** New human embryo liver cell lines obtained by stabilization and immortalization enhance in vitro clonal growth of cordonal blood cells. *Int J Mol Med* 2002; 10(5):561-568.
28. **Paulesu L, Romagnoli R, Bigliardi E.** Materno-fetal immunotolerance: is Interleukin-1 a fundamental mediator in placental viviparity? *Dev Comp Immunol* 2005; 29(5):409-415.
29. **Simon C, Valbuena D, Krussel J, Bernal A, Murphy CR, Shaw T, Pellicer A, Polan ML.** Interleukin-1 receptor antagonist prevents embryonic implantation by a direct effect on the endometrial epithelium. *Fertil Steril* 1998; 70(5):896-906.
30. **Polan ML, Simon C, Frances A, Lee BY, Prichard LE.** Role of embryonic factors in human implantation. *Hum Reprod* 1995; 10 (Suppl 2):22-29.
31. **Dimitriadis E, Menkhorst E, Salamonsen LA, Paiva P.** Review: LIF and IL11 in trophoblast-endometrial interactions during the establishment of pregnancy. *Placenta* 2010; 31 (Suppl):S99-104.
32. **McEwan M, Lins RJ, Munro SK, Vincent ZL, Ponnampalam AP, Mitchell MD.** Cytokine regulation during the formation of the fetal-maternal interface: focus on cell-cell adhesion and remodelling of the extra-cellular matrix. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009; 20(3):241-249.
33. **van Mourik MS, Macklon NS, Heijnen CJ.** Embryonic implantation: cytokines, adhesion molecules, and immune cells in establishing an implantation environment. *J Leukoc Biol* 2009; 85(1):4-19.
34. **Moffett A, Hiby SE.** How does the maternal immune system contribute to the development of pre-eclampsia? *Placenta* 2007; 28 (Suppl A):S51-S56.
35. **Laresgoiti-Servitje E, Gomez-Lopez N, Olson DM.** An immunological insight into the origins of pre-eclampsia. *Hum Reprod Update* 2010; 16(5):510-524.
36. **Raghupathy R.** Pregnancy: success and failure within the Th1/Th2/Th3 paradigm. *Semin Immunol* 2001; 13(4):219-227.
37. **Liu YS, Wu L, Tong XH, Wu LM, He GP, Zhou GX, Luo LH, Luan HB.** Study on the relationship between Th17 Cells and unexplained recurrent spontaneous abortion. *Am J Reprod Immunol* 2011; 65(5):503-511.
38. **Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M.** Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2010; 63(6):601-610.
39. **Wang WJ, Hao CF, Yi L, Yin GJ, Bao SH, Qiu LH, Lin QD.** Increased prevalence of T helper 17 (Th17) cells in peripheral blood and decidua in unexplained recurrent spontaneous abortion patients. *J Reprod Immunol* 2010; 84(2):164-170.
40. **Szekeress-Bartho J, Halasz M, Palkovics T.** Progesterone in pregnancy; receptor-ligand interaction and signaling pathways. *J Reprod Immunol* 2009; 83(1-2): 60-64.
41. **Gomez-Lopez N, Laresgoiti-Servitje E, Olson DM, Estrada-Gutierrez G, Vadillo-Ortega F.** The role of chemokines in term and premature rupture of the fetal mem-

- branes: a review. *Biol Reprod* 2010; 82(5): 809-814.
42. **Margni RA, Gentile MT, Miranda S.** Asymmetric antibodies: the antigen protective arm in a Th2-regulated immune response. *Immunología* 21[1], 29-35. 2002.
  43. **Ramhorst RE.** Mecanismos inmunológicos involucrados en la prevención del rechazo semialogénico fetal y sus posibles fallas en los abortos recurrentes espontáneos. *Rev Soc Arg Endocrinol Ginecol Reprod* 2003; X:2-9.
  44. **Seppala M, Taylor RN, Koistinen H, Koistinen R, Milgrom E.** Glycodelin: a major lipocalin protein of the reproductive axis with diverse actions in cell recognition and differentiation. *Endocr Rev* 2002; 23(4):401-430.
  45. **Srivastava MD, Thomas A, Srivastava BI, Check JH.** Expression and modulation of progesterone induced blocking factor (PIBF) and innate immune factors in human leukemia cell lines by progesterone and mifepristone. *Leuk Lymphoma* 2007; 48(8):1610-1617.
  46. **Druckmann R, Druckmann MA.** Progesterone and the immunology of pregnancy. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; 97(5): 389-396.
  47. **Choe YS, Shim C, Choi D, Lee CS, Lee KK, Kim K.** Expression of galectin-1 mRNA in the mouse uterus is under the control of ovarian steroids during blastocyst implantation. *Mol Reprod Dev* 1997; 48(2):261-266.
  48. **Terness P, Kallikourdis M, Betz AG, Rabinovich GA, Saito S, Clark DA.** Tolerance signaling molecules and pregnancy:IDO, galectins, and the renaissance of regulatory T cells. *Am J Reprod Immunol* 2007; 58(3):238-254.
  49. **Blois SM, Iñarregui JM, Tometten M, Garcia M, Orsal AS, Cordo-Russo R, Toscano MA, Bianco GA, Kobelt P, Handjiski B, Tirado I, Markert UR, Klapp BF, Poirier F, Szekeres-Bartho J, Rabinovich GA, Arek PC.** A pivotal role for galectin-1 in fetomaternal tolerance. *Nat Med* 2007; 13(12):1450-1457.
  50. **Carosella ED, Moreau P, Lemaoult J, Rouas-Freiss N.** HLA-G: from biology to clinical benefits. *Trends Immunol* 2008; 29(3):125-132.
  51. **Rizzo R, Stignani M, Melchiorri L, Baricordi OR.** Possible role of human leukocyte antigen-G molecules in human oocyte/embryo secretome. *Hum Immunol* 2009; 70(12):970-975.
  52. **Hunt JS, Petroff MG, McIntire RH, Ober C.** HLA-G and immune tolerance in pregnancy. *FASEB J* 2005; 19(7):681-693.
  53. **Hunt JS, Langat DK, McIntire RH, Morales PJ.** The role of HLA-G in human pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol* 2006; 4 Suppl 1:S10.
  54. **Rizzo R, Melchiorri L, Stignani M, Baricordi OR.** HLA-G expression is a fundamental prerequisite to pregnancy. *Hum Immunol* 2007; 68(4):244-250.
  55. **Hunt JS, Langat DL.** HLA-G: a human pregnancy-related immunomodulator. *Curr Opin Pharmacol* 2009; 9(4):462-469.
  56. **Gonen-Gross T, Goldman-Wohl D, Huppertz B, Lankry D, Greenfield C, Natanson-Yaron S, Hamani Y, Gilad R, Yagel S, Mandelboim O.** Inhibitory NK receptor recognition of HLA-G: regulation by contact residues and by cell specific expression at the fetal-maternal interface. *PLoS One* 2010; 5(1):e8941.
  57. **Blanco O, Tirado I, Munoz-Fernandez R, Abadia-Molina AC, Garcia-Pacheco JM, Pena J, Olivares EG.** Human decidual stromal cells express HLA-G: Effects of cytokines and decidualization. *Hum Reprod* 2008; 23(1):144-152.
  58. **Gregori S, Magnani CF, Roncarolo MG.** Role of human leukocyte antigen-G in the induction of adaptive type 1 regulatory T cells. *Hum Immunol* 2009; 70(12): 966-969.
  59. **Sheshgiri R, Rao V, Tumiati LC, Xiao R, Prodger JL, Badiwala M, Librach C, Delgado DH.** Progesterone induces human leukocyte antigen-g expression in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Circulation* 2008; 118(14 Suppl):S58-S64.
  60. **O'Garra A, Vieira P.** Regulatory T cells and mechanisms of immune system control. *Nat Med* 2004; 10(8):801-805.
  61. **Sakaguchi S.** Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells



- in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol* 2005; 6(4):345-352.
62. **Sasaki Y, Sakai M, Miyazaki S, Higuma S, Shiozaki A, Saito S.** Decidual and peripheral blood CD4+CD25+ regulatory T cells in early pregnancy subjects and spontaneous abortion cases. *Mol Hum Reprod* 2004; 10(5):347-353.
63. **Guerin LR, Prins JR, Robertson SA.** Regulatory T-cells and immune tolerance in pregnancy: a new target for infertility treatment? *Hum Reprod Update* 2009; 15(5):517-535.
64. **Wilezynski JR, Kalinka J, Radwan M.** The role of T-regulatory cells in pregnancy and cancer. *Front Biosci* 2008; 13:2275-2289.
65. **Zenclussen AC, Gerlof K, Zenclussen ML, Ritschel S, Zambon BA, Fest S, Hontsu S, Ueha S, Matsushima K, Leber J, Volk HD.** Regulatory T cells induce a privileged tolerant microenvironment at the fetal-maternal interface. *Eur J Immunol* 2006; 36(1):82-94.
66. **Robertson SA, Guerin LR, Bromfield JJ, Branson KM, Ahlstrom AC, Care AS.** Seminal fluid drives expansion of the CD4+CD25+ T regulatory cell pool and induces tolerance to paternal alloantigens in mice. *Biol Reprod* 2009; 80(5):1036-1045.
67. **Prieto GA, Rosenstein Y.** Oestradiol potentiates the suppressive function of human CD4 CD25 regulatory T cells by promoting their proliferation. *Immunology* 2006; 118(1):58-65.
68. **Zhang J, Croy BA, Tian Z.** Uterine natural killer cells: their choices, their missions. *Cell Mol Immunol* 2005; 2(2):123-129.
69. **Manaster I, Mizrahi S, Goldman-Wohl D, Sela HY, Stern-Ginossar N, Lankry D, Gruda R, Hurwitz A, Bdolah Y, Haimov-Kochman R, Yagel S, Mandelboim O.** Endometrial NK cells are special immature cells that await pregnancy. *J Immunol* 2008; 181(3):1869-1876.
70. **Guleria I, Sayegh MH.** Maternal acceptance of the fetus: true human tolerance. *J Immunol* 2007; 178(6):3345-3351.
71. **Saito S, Nakashima A, Myojo-Higuma S, Shiozaki A.** The balance between cytotoxic NK cells and regulatory NK cells in human pregnancy. *J Reprod Immunol* 2008; 77(1):14-22.
72. **Loza MJ, Perussia B.** Final steps of natural killer cell maturation: a model for type 1-type 2 differentiation? *Nat Immunol* 2001; 2(10):917-924.
73. **Zhang C, Zhang J, Tian Z.** The regulatory effect of natural killer cells: do "NK-reg cells" exist? *Cell Mol Immunol* 2006; 3(4):241-254.
74. **Arruvito L, Giulianelli S, Flores AC, Paladino N, Barboza M, Lanari C, Fainboim L.** NK cells expressing a progesterone receptor are susceptible to progesterone-induced apoptosis. *J Immunol* 2008; 180(8):5746-5753.
75. **Mowat AM.** Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol* 2003; 3(4):331-341.
76. **Kalinski P, Hilkens CM, Snijders A, Snijdwint FG, Kapsenberg ML.** Dendritic cells, obtained from peripheral blood precursors in the presence of PGE2, promote Th2 responses. *Adv Exp Med Biol* 1997; 417:363-367.
77. **Rutella S, Danese S, Leone G.** Tolerogenic dendritic cells: cytokine modulation comes of age. *Blood* 2006; 108(5):1435-1440.
78. **Blois SM, Kammerer U, Alba SC, Tometten MC, Shaikly V, Barrientos G, Jurd R, Rukavina D, Thomson AW, Klapp BF, Fernandez N, Arck PC.** Dendritic cells: key to fetal tolerance? *Biol Reprod* 2007; 77(4):590-598.
79. **Mor G, Gutierrez LS, Eliza M, Kahyaoglu F, Arici A.** Fas-fas ligand system-induced apoptosis in human placenta and gestational trophoblastic disease. *Am J Reprod Immunol* 1998; 40(2):89-94.
80. **Jerzak M, Kasprzycka M, Wierbicki P, Kotarski J, Gorski A.** Apoptosis of T cells in the first trimester human decidua. *Am J Reprod Immunol* 1998; 40(3):130-135.
81. **Huppertz B, Rote NS, Nelson DM, Reister F, Black S, Hunt JS.** Apoptosis: molecular control of placental function- a workshop report. *Placenta* 2001; 22 Suppl A:S101-S103.
82. **Simon C, Dominguez F, Remohi J, Pellicer A.** Embryo effects in human im-

- plantation: embryonic regulation of endometrial molecules in human implantation. *Ann NY Acad Sci* 2001; 943:1-16.
83. **Voll RE, Herrmann M, Roth EA, Stach C, Kalden JR, Girkontaite I.** Immunosuppressive effects of apoptotic cells. *Nature* 1997; 390(6658):350-351.
84. **Mor G, Koga K.** Macrophages and pregnancy. *Reprod Sci* 2008; 15(5):435-436.
85. **Mor G, Abrahams VM.** Potential role of macrophages as immunoregulators of pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1:119.
86. **von Rango U.** Fetal tolerance in human pregnancy- a crucial balance between acceptance and limitation of trophoblast invasion. *Immunol Lett* 2008; 115(1):21-32.
87. **Hsi BL, Hunt JS, Atkinson JP.** Differential expression of complement regulatory proteins on subpopulations of human trophoblast cells. *J Reprod Immunol* 1991; 19(3):209-223.
88. **Holmes CH, Simpson KL.** Complement and pregnancy: new insights into the immunobiology of the fetomaternal relationship. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1992; 6(3):439-460.
89. **Thorsteinsson L, O'Dowd GM, Harrington PM, Johnson PM.** The complement regulatory proteins CD46 and CD59, but not CD55, are highly expressed by glandular epithelium of human breast and colorectal tumour tissues. *APMIS* 1998; 106(9):869-878.
90. **Rand JH.** Antiphospholipid antibody-mediated disruption of the annexin-V antithrombotic shield: a thrombogenic mechanism for the antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun* 2000; 15(2):107-111.
91. **Gharavi AE, Pierangeli SS, Levy RA, Harris EN.** Mechanisms of pregnancy loss in antiphospholipid syndrome. *Clin Obstet Gynecol* 2001; 44(1):11-19.
92. **Thellin O, Coumans B, Zorzi W, Igout A, Heinen E.** Tolerance to the foeto-placental 'graft': ten ways to support a child for nine months. *Curr Opin Immunol* 2000; 12(6):731-737.
93. **Ogawa H, Zhao D, Dlott JS, Cameron GS, Yamazaki M, Hata T, Triplett DA.** Elevated anti-annexin V antibody levels in antiphospholipid syndrome and their involvement in antiphospholipid antibody specificities. *Am J Clin Pathol* 2000; 114(4):619-628.
94. **Shu F, Sugimura M, Kanayama N, Kobayashi H, Kobayashi T, Terao T.** Immunohistochemical study of annexin V expression in placentae of preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 2000; 49(1):17-23.
95. **Zen M, Ghirardello A, Iaccarino L, Tonon M, Campana C, Arienti S, Rampudda M, Canova M, Doria A.** Hormones, immune response, and pregnancy in healthy women and SLE patients. *Swiss Med Wkly* 2010; 140(13-14):187-201.