

**TOLERANCIA DIVIDIDA EN ÉQUIDOS: IMPORTANCIA EN EL EQUILIBRIO
INMUNITARIO DE LA INTERFASE MATERNO-FETAL
SPLIT TOLERANCE IN HORSE: IMPORTANCE IN THE IMMUNE BALANCE AT
THE MATERNO-FETAL INTERFACE**

Ivascu AM y Cutuli de Simón T.

Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense

Correspondencia del autor: angela_ivascu@hotmail.com

RESUMEN

La gestación induce un estado de tolerancia dividida. En esta situación la hembra gestante, aunque es capaz de inducir respuesta inmunológica frente los antígenos fetales, es tolerante a esos mismos antígenos en el útero grávido. El útero grávido es un “sitio inmunológicamente privilegiado” en el que existe una barrera física más o menos inaccesible para el sistema inmunitario materno y una inmunomodulación maternal en la interfase, fundamentales para el establecimiento del equilibrio inmunitario que asegure la supervivencia del feto en dicho ambiente.

En este trabajo resaltaremos la aportación del équido en la comprensión de los mecanismos del equilibrio inmunitario en la gestación, ya que es el ejemplo más claro de tolerancia dividida. Se analiza tanto el tipo de placenta epiteliocorial equina y su paralelismo con la humana, como la inmunomodulación existente en la interfase en la que intervienen: hormonas secretadas por células del endometrio materno y del trofoblasto fetal; citoquinas adecuadas para el establecimiento de un microambiente tolerante; células presentadoras de antígeno con comportamiento diferente al usual y por último, la inhibición e inducción de apoptosis en linfocitos T; así como la importante presencia de linfocitos T reguladores TregFoxP3+.

Palabras claves: tolerancia dividida, gestación, inmunomodulación, placenta epiteliocorial, trofoblasto.

ABSTRACT

Pregnancy induces a state of split tolerance, a situation where although a pregnant female is capable of developing an immune response to fetal antigens, it's tolerant to those antigens in the pregnant uterus. The pregnant uterus is an "immunological privileged site" where there is a physical barrier more or less inaccessible for the maternal immune system and a maternal immune-modulation at the interface, fundamental for the establishment of the immune balance that must ensure the survival of the fetus in the uterine environment.

In this review we highlight the contribution of the horse in the understanding of the pregnancy immune balance mechanisms, because it is the best example of split tolerance. It is analyzed both equine epitheliocorial placenta and it's parallelism with human placenta, and the immune-modulation at the interface in which are involved: endometrial and trophoblast secreted hormones; cytokines appropriate for the establishment of the tolerant microenvironment; antigen presenting cells with an unusual behavior; T lymphocytes inhibited and induced to apoptosis; and the important presence of T regulatory lymphocytes TregFoxP3+.

Key words: split tolerance, pregnancy, immune-modulation, epitheliocorial placenta, trophoblast.

INTRODUCCIÓN

Para el mantenimiento de la gestación en los mamíferos se precisa la existencia de un equilibrio inmunitario materno-fetal que evite el rechazo del feto por la madre, ya que este es un cincuenta por ciento diferente respecto a la antigenicidad correspondiente al complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), y al mismo tiempo, permita a la madre defenderse de organismos patógenos.

La tolerancia dividida se refiere a estados en los que un individuo es capaz de desarrollar respuesta inmunológica a un desafío antigénico en particular, pero es tolerante al mismo antígeno en otros compartimentos de acceso selectivo para el sistema inmunitario. De Mestre *et al.* (2010). Este concepto es totalmente aplicable a la relación existente entre madre y feto durante la gestación de cualquier mamífero. El caso de la yegua puede ser un referente, ya que sus características permiten relacionarlo con otras especies, incluso con la gestación humana, De Mestre *et al.* (2010), Noronha y Antczak (2010).

El útero grávido es un “lugar o sitio inmunológicamente privilegiado” en el que existe una barrera física más o menos inaccesible para el sistema inmunitario de la madre y una inmunomodulación maternal en la interfase, que induce una falta de respuesta hacia el feto.

Genéricamente en dicha interfase se produce:

- a) Intervención de hormonas producidas por células del endometrio maternal y por el trofoblasto fetal, las cuales actúan sobre linfocitos T (LT) y células presentadoras de antígenos (CPA).
- b) Secreción de citoquinas anti-inflamatorias por células epiteliales uterinas, células dendríticas, macrófagos y linfocitos T colaboradores tipo 2 (LTh2) y por células del trofoblasto fetal. Estas citoquinas aseguran el establecimiento de un microambiente tolerante en la interfase.
- c) Inmunosupresión y cambio de la actuación de CPAs (dendríticas y macrófagos) deciduales, con capacidad limitada para activar linfocitos.
- d) Sobreexpresión del ligando superficial FasL en las células de la interfase del trofoblasto, que induce apoptosis en linfocitos T activados colindantes.
- e) Inhibición de linfocitos T por la enzima IDO (indoleamina 2,-3-dioxigenasa) secretada por el trofoblasto (sincitiotrofoblasto en humanos) y por las células dendríticas. La IDO actúa degradando el triptófano, por lo que disminuye la disponibilidad del mismo para la proliferación de los linfocitos T en la interfase materno fetal.
- f) Gran concentración de linfocitos T reguladores TregFOXP3+, encargados de mantener la tolerancia.
- g) Disminución de la expresión de las moléculas del CMH de tipo I en el trofoblasto fetal, evitando el reconocimiento de los antígenos fetales.

La supervivencia del feto en el ambiente materno se debe a mecanismos inmunitarios complejos y muy eficaces, siendo el aborto una situación anómala, pudiendo deberse a fallos fundamentalmente del sistema inmunitario innato. Así, la inflamación de la placenta (por ciertas patologías), la activación del complemento o la presencia de infiltrados leucocitarios, podría provocar una reacción adversa hacia el feto, Thellin y Heinen (2003).

El conocimiento de los factores y mecanismos del equilibrio inmunitario materno-fetal, resulta ser un objetivo de gran importancia actual en diferentes áreas profesionales, para

la comprensión y control de la gestación en mamíferos. En el presente artículo pretendemos contribuir a este conocimiento mediante la elaboración de una revisión de las teorías establecidas en los principales trabajos realizados.

En primer lugar, trataremos el útero grávido como barrera física estudiando la placenta equina y su paralelismo con la humana. Posteriormente analizaremos la inmunomodulación maternal en general; y en último lugar, resaltaremos la importancia de la tolerancia dividida y su aportación en la comprensión de la gestación, centrándonos en los estudios realizados en la especie equina considerada como el ejemplo más claro de este concepto inmunitario.

PLACENTA EQUINA Y HUMANA

La placenta está constituida por dos componentes principales: una porción de origen materno (la decidua), y una de origen fetal (el trofoblasto), que forman la interfase materno-fetal, característica que comparten todos los mamíferos, y por tanto équidos y humanos.



Figura 1: Diferencias entre el tipo de placenta epitelio coriario (izquierda) y hemocorrio (derecha). En la placenta epitelio coriario se observa que el corion contacta con el epitelio uterino intacto, en cambio en la hemocorrio el corion penetra el epitelio, existiendo contacto con la sangre materna.

La principal diferencia entre estas dos especies reside en el tipo de placenta. La placenta equina es de tipo epitelio coriario, en la que existen seis capas de células que separan el trofoblasto fetal del útero materno, y en la que el epitelio coriónico fetal contacta con el epitelio uterino permaneciendo este intacto, De Mestre *et al.* (2010), Noronha y Antczak (2010), Moffet y Loke (2006), Noden y Lahunta (2001), Bainbridge (2000). La placenta humana en cambio, es de tipo hemocorrio en la que solo hay una capa de células en la

interfase, y en la que el trofoblasto fetal penetra en el endometrio hasta el punto de contactar con la sangre materna (Fig. 1), Sadler (2007), Carter *et al.* (2006), Moffet y Loke (2006), Kanellopoulos-Langevin *et al.* (2003), Noden y Lahunta (2001). Sin duda alguna, el tipo de placenta constituye una característica muy importante en el estudio de la inmunidad en la gestación, de tal forma que mientras la epiteliocorial es una barrera indiscutible para el acceso del sistema inmunitario materno, la hemocorial tiene menor función como tal.

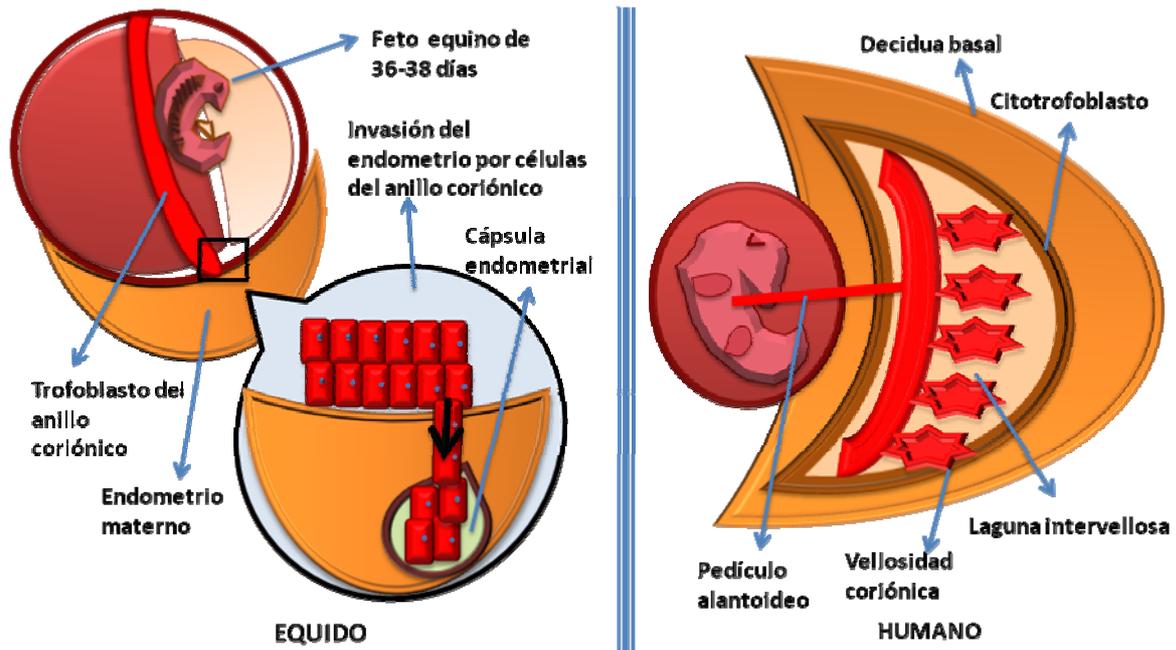


Figura 2: Semejanzas entre la placenta epiteliocorial equina y hemocorial humana. En la placenta epiteliocorial se observa cómo las células del anillo coriónico invaden el endometrio en ciertas zonas, dando lugar a cápsulas endometriales. Estas cápsulas se asemejan con el trofoblasto completamente invasivo de los humanos.

Ahora bien, en fases tempranas de la gestación de los équidos hay ciertas células del anillo coriónico que invaden el endometrio materno, dando lugar a cápsulas endometriales que representan una porción de trofoblasto invasivo. Éste es el aspecto que hace enormemente interesante la gestación equina, ya que presenta similitud con el trofoblasto completamente invasivo de humanos (Fig. 2), De Mestre *et al.* (2010), Noronha y Antczak (2010), Carter *et al.* (2006). El trofoblasto del anillo coriónico empieza a multiplicarse rápidamente entre los días 25 y 35 de gestación, adquiriendo un fenotipo invasivo. Entre los días 36 y 38 estas células invaden profundamente el endometrio materno, se agrupan y forman las estructuras denominadas cápsulas endometriales, Allen (2001), King (1993). Estas cápsulas endometriales son las responsables de la producción de la gonadotropina coriónica equina

(eCG), que posee funciones muy parecidas a la gonadotropina coriónica humana (hCG). La función básica de la eCG es la luteinización de los folículos secundarios, encargados de la producción de progesterona, que permite el mantenimiento de la gestación hasta aproximadamente el día 100 de gestación, momento en que la placenta es capaz de secretar por sí misma la progesterona, Noronha y Antczak (2010), Allen (2001).

La gestación en équidos dura entre 335 y 350 días, siendo la implantación del embrión muy tardía, en el día 36 de gestación (Fig. 3), hecho que permite la toma de muestras de embriones y placenta mediante lavados, sin necesidad de cirugía, Noronha y Antczak (2010). Esta característica facilita la realización de diversos estudios de las fases tempranas del desarrollo de la gestación equina, incluidos los referentes a la inmunidad durante la misma.

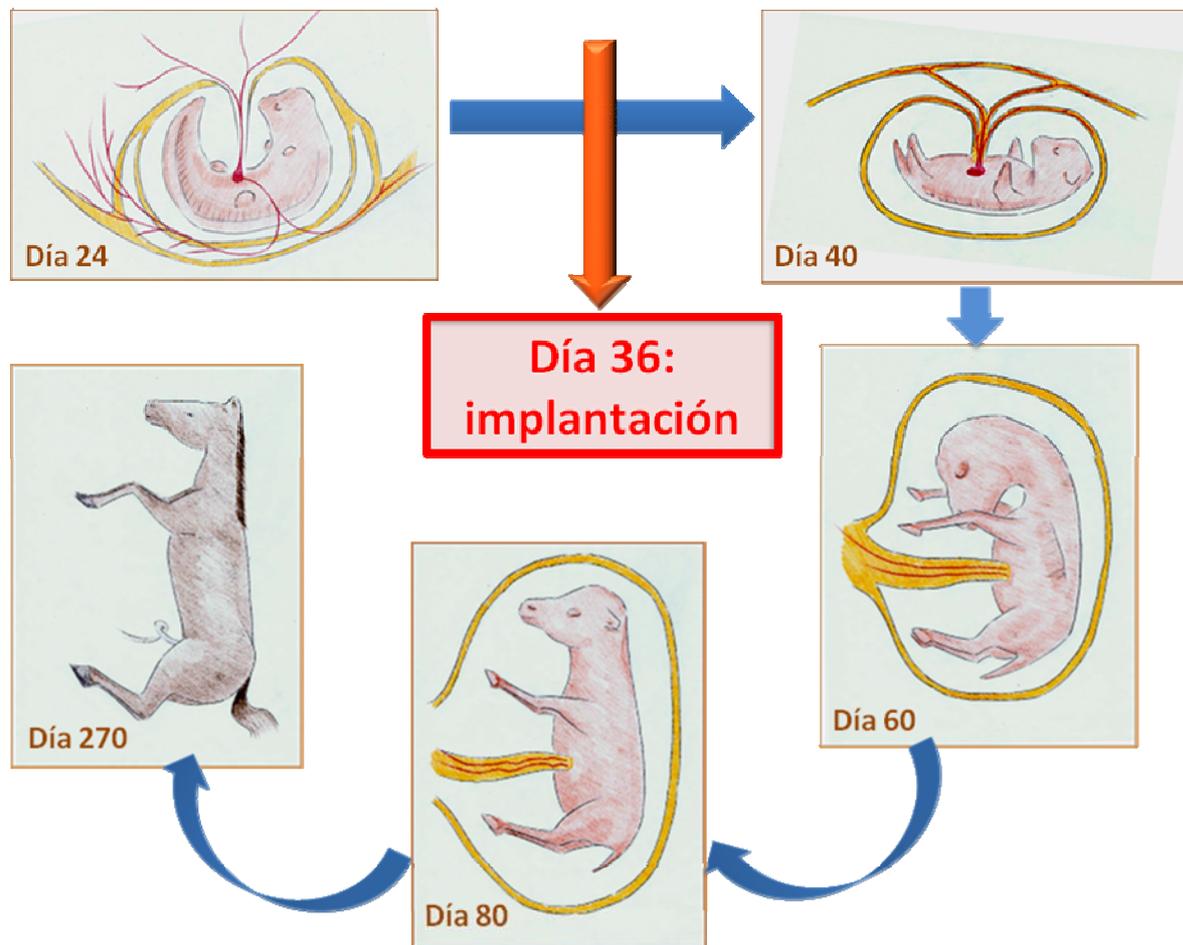


Figura 3: Esquema de la gestación en équidos, en donde la implantación fetal se produce en el día 36, alcanzándose la madurez fetal entre los días 335 y 350, tiempo en el que se desencadena el parto.

EQUILIBRIO INMUNITARIO

El desarrollo de la placenta en el útero materno depende de la interacción de dos factores: las moléculas secretoras producidas por las células del trofoblasto, y de las células inmunitarias de la decidua, Sanguansermisri y Pongcharoen (2008). Esta interacción se realiza a través de una red local de citoquinas y factores de crecimiento, de ahí la necesidad de una inmunomodulación en la interfase materno-fetal.

La inmunomodulación en la hembra gestante es importante porque por un lado debe inhibir toda respuesta inmunitaria que se pueda generar sobre el feto y al mismo tiempo debe permitir al sistema inmunitario identificar y eliminar antígenos endógenos o exógenos, especialmente los patógenos, Doménech (2007), Kanellopoulos-Langevin *et al.* (2003).

Para explicar la inmunomodulación, hay que analizar sus cuatro componentes básicos:

- a) Hormonas de acción local producidas por endometrio maternal y por el trofoblasto fetal.
- b) Citoquinas antiinflamatorias.
- c) CPA: células dendríticas y macrófagos.
- d) Linfocitos T colaboradores y T reguladores (LTreg).

Inmunomodulación por hormonas:

Este tipo de inmunomodulación está influenciada por los altos niveles de hormonas producidas durante la gestación (Tabla 1).

La progesterona es la hormona más importante en la gestación siendo imprescindible en el establecimiento y el mantenimiento de la misma, debido tanto a sus efectos endocrinos como inmunitarios, Bazer *et al.* (2008) y Arck *et al.* (2007). Predispone hacia una respuesta Th2 (humoral), promoviendo la tolerancia regulando la secreción de citoquinas por las células epiteliales uterinas y del trofoblasto, Doménech (2007), Szekeres-Bartho (2002). Se ha comprobado su capacidad para inhibir la linfopoyesis de linfocitos T en fases tempranas de la gestación, controlando las vías dirigidas hacia una inmunidad protectora, Arck *et al.* (2007). Además, inhibe la capacidad de reclutamiento de macrófagos por el estrógeno, Laskarin *et al.* (2007), Robertson (2000).

El estrógeno es una hormona importante tanto en el ciclo estral de los mamíferos así como durante la gestación. Induce la producción de citoquinas por células del epitelio uterino y el reclutamiento de macrófagos deciduales, Robertson (2000).

Hormonas	<ul style="list-style-type: none"> • PROGESTERONA • ESTRÓGENO • PROSTAGLANDINA E2
CITOQUINAS BENEFICIOSAS	<ul style="list-style-type: none"> • TGF-β • CSF-1 • IL-4, IL-5 e IL-10
CITOQUINAS PERJUDICIALES	<ul style="list-style-type: none"> • TNF-α • IFN-γ • IL-12 e IL-18 • GM-CSF

Tabla 1: Principales hormonas y citoquinas que intervienen en la gestación

La prostaglandina E2, secretada por el embrión principalmente (alrededor del día 5 de gestación), actúa relajando las fibras musculares de la pared del oviducto para permitir el avance del mismo hacia el útero, Allen (2001). Se ha demostrado que asimismo estimula la producción de interleuquina 10 (IL-10) por las células dendríticas y del trofoblasto, de efecto protector frente a la reabsorción fetal, Doménech (2007), Laskarin *et al.* (2007).

Inmunomodulación por citoquinas:

Las citoquinas son moléculas “mensajeras” encargadas de la comunicación entre las células del sistema inmunitario, y el correcto funcionamiento del mismo depende de la coordinación y el equilibrio de dichas moléculas, Cuello (2007). Las citoquinas, se pueden clasificar como beneficiosas o perjudiciales para el desarrollo de la gestación según inhiban o promuevan la respuesta inflamatoria respectivamente (Tabla 1), Doménech (2007).

Las citoquinas beneficiosas tienden a suprimir las respuestas inflamatorias por su actividad antagonista frente a citoquinas que promueven la inflamación, García (2007), Veenstra van Nieuwenhoven *et al.* (2003). Son citoquinas de tipo Th2, denominadas así porque estimulan la producción de linfocitos T colaboradores tipo 2 y/o son producidas por estos, induciendo un estado antiinflamatorio:

- Factor del crecimiento transformante beta (TGF- β) producido por plasma seminal, macrófagos, linfocitos T, que actúan sobre numerosas células inmunitarias, García (2007), así como sobre las células epiteliales uterinas.
- Interleuquinas IL-4, IL-5 e IL-10, producidas por linfocitos Th2, García (2007), son también producidas por células del trofoblasto fetal, Robertson (2000). Destaca la acción represora de la IL-10 sobre los linfocitos Th1, los cuales inducen ambiente inflamatorio no deseado.
- Factor estimulante de colonias de macrófagos (CSF-1), producido por macrófagos, García (2007), es igualmente producido por células epiteliales uterinas bajo la influencia de la progesterona, y una de sus actuaciones consiste en la inhibición de la capacidad de las células dendríticas para activar a los linfocitos T vírgenes en su diferenciación a linfocitos T citotóxicos (Tc), Robertson (2000).

Las citoquinas perjudiciales son las relacionadas con la inflamación:

- Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) producido por macrófagos y linfocitos Th1, que induce la muerte de las células que presentan las moléculas del CMH tipo I alteradas o diferentes, García (2007).
- Interferón gamma (IFN- γ) producido por linfocitos Th1, que interviene en la activación y regulación de la respuesta inmune de base celular, Tizard (2009), García (2007).
- Interleuquinas IL-12 producida por macrófagos y células dendríticas, que regula la diferenciación de linfocitos T en Th1; e IL-18 producida por macrófagos, que estimula la síntesis de IFN- γ en los linfocitos T y células asesinas naturales (Natural Killer, NK), García (2007).
- Factor estimulador de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF) producido por linfocitos Th1 y macrófagos, García (2007), es asimismo producido por células epiteliales uterinas bajo la influencia del estrógeno, Robertson (2000).

Hemos de comentar que una expresión aumentada de citoquinas Th1, ocasionada tras una infección por un patógeno intracelular, provoca un desequilibrio entre la capacidad de mantener la gestación y la necesidad de responder al patógeno, por lo que se puede comprometer la gestación y la vida fetal, Renaud y Graham (2008), Domenech (2007), Koch y Platt (2007), Laskarin *et al.* (2007), Zenclussen (2006), Kanellopoulos-Langevin *et al.* (2003), Thellin y Heinen (2003), Veenstra van Nieuwenhoven *et al.* (2003), Adams y Antczak (2001), Robertson (2000).

Inmunomodulación por células presentadoras de antígenos:

Las CPA son las primeras mediadoras del encuentro con los antígenos fetales teniendo gran relevancia. Esto es así porque una inadecuada presentación de éstos antígenos podría desencadenar el aborto, Szekeres-Bartho (2002). Son dos los principales tipos celulares con función presentación de antígenos: células dendríticas y macrófagos.

Las células dendríticas (CD) poseen una doble función:

- Las CD inmaduras (encargadas del procesamiento y la presentación de los antígenos) expresan productos con baja cantidad de genes del CMH y pocas moléculas co-estimuladoras de linfocitos T. Por lo tanto, son responsables de la tolerancia.

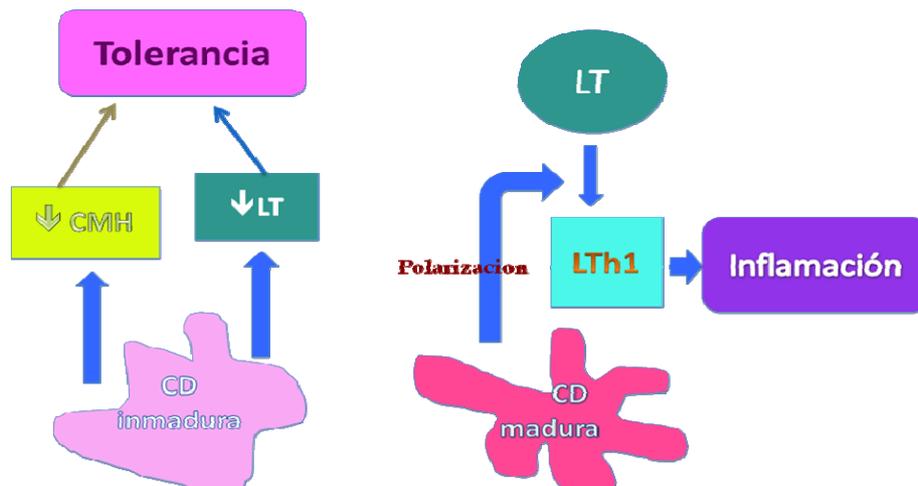


Figura 4: Actuación de las células dendríticas (CD) según su estado de maduración. Las CD inmaduras, al expresar baja concentración de moléculas del CMH y al tener baja capacidad para activar LT, son responsables del establecimiento de la tolerancia. En cambio, las CD maduras, al ser capaces de inducir la polarización de LT hacia poblaciones de LTh1, son responsables de la inflamación.

- En contraste, las CD maduras se encargan de estimular la formación de linfocitos Th1, siendo las responsables de la generación de una respuesta inflamatoria (Fig. 4), Tizard (2009), Laskarin *et al.* (2007).

La actuación de las células dendríticas maduras en la decidua temprana es distinta de la actuación en otras zonas corporales de la hembra, porque presentan una capacidad reducida de estimular a los linfocitos T y secretan IL-12, deduciéndose la existencia de una gran modulación de su actividad en la interfase materno-fetal, Laskarin *et al.* (2007), Veenstra van Nieuwenhoven *et al.* (2003). Por otro lado, en la presentación de antígenos fetales durante la gestación, reina un ambiente tolerante en el que no existe la señal de “peligro” necesaria para que las células dendríticas activen a los linfocitos T proinflamatorios, Laskarin *et al.* (2007), Zenclussen (2006), Robertson (2000). Además, en este ambiente tolerante se estimula la producción de IDO, que induce la apoptosis de linfocitos T reactivos formados frente a los antígenos fetales, Laskarin *et al.* (2007), Zenclussen (2006).

En efecto, las células dendríticas quedan influenciadas por factores de la decidua:

- La IL-10 inhibe la estimulación mediada por los mismos de los linfocitos T.
- La progesterona induce un descenso en la expresión de GM-CSF por las células epiteliales uterinas, que disminuirá la capacidad de estas de activar células dendríticas, Robertson (2000). Esta hormona inhibe a las células dendríticas maduras y bloquea la estimulación de los linfocitos T por células dendríticas, Arck *et al.* (2007).
- El estrógeno, mediante la regulación de la IDO, inhibe la capacidad de las células dendríticas para estimular la proliferación de los linfocitos T y la producción de los dos tipos de citoquinas (Th1/Th2),

Existe también una relación e interacción compleja entre las células dendríticas y las células asesinas naturales (NK), que posibilita el enlace entre la respuesta inmunitaria innata y adaptativa, crucial para el establecimiento del microambiente de tolerancia en la decidua de la placenta. Esta característica es importante en la gestación humana, sin embargo no parece tener relevancia en équidos dado que no se han encontrado células NK en el útero de los mismos.

Los macrófagos son importantes células fagocitarias y presentadoras de antígenos en general, pero en la decidua de la placenta (macrófagos deciduales) tienen reducida capacidad como tales. Sin embargo se caracterizan por ser antiinflamatorios y tolerogénicos, Renaud y Graham (2008), Laskarin *et al.* (2007), e incapaces de producir la enzima IDO, Laskarin *et al.* (2007). Poseen un importante papel en la protección del feto frente a infecciones intrauterinas causadas por bacterias, debido a su capacidad para producir radicales superóxido. Además, se ha visto que pueden secretar prostaglandina E2 capaz de bloquear la activación de leucocitos con actividad lítica anti-trofoblasto, Sanguansermisri y Pongcharoen (2008).

Tanto el endometrio como las células del trofoblasto secretan factores inhibidores de la migración de macrófagos, por lo que la interacción funcional de los macrófagos deciduales con las células del trofoblasto es importante para el éxito de la gestación. Entre las sustancias que interfieren en la actividad de los macrófagos deciduales se encuentran: el estrógeno, que incrementa la secreción uterina de CSF-1 y GM-CSF, ambos capaces de estimular el reclutamiento de macrófagos; y la progesterona que interfiere con la capacidad del estrógeno para el reclutamiento de los mismos, Renaud y Graham (2008).

Por último, los macrófagos deciduales secretan perforina, que puede ser empleada en la destrucción de macrófagos activados (Fig. 5).



Figura 5: Actuación de los macrófagos deciduales. Estos macrófagos, a diferencia de los presentes en otros tejidos, son tolerogénicos y antiinflamatorios, ya que en la decidua no reciben ningún estímulo de peligro para su activación. Su producción es estimulada por CSF-1 y por el estrógeno, mientras que la progesterona actúa inhibiendo su activación. Asimismo, por su capacidad de secreción de perforina, son los encargados de la destrucción de los macrófagos activados con capacidad inflamatoria.

Inmunomodulación por linfocitos T y Treguladores:

Desde hace tiempo se conoce la no respuesta de linfocitos T maternos frente al feto, y fueron dos las hipótesis las que intentaron explicar esta aceptación inmunológica: una de ellas preconizó que los linfocitos T no entran realmente en contacto con los aloantígenos del feto, y la otra aseguró que sí contactan pero no actúan debido a la tolerancia inmunológica. Muchos estudios han demostrado que los linfocitos T son perfectamente capaces de identificar de la presencia de los antígenos fetales, Szekeres-Bartho (2002), Mellor y Munn (2000), por lo que la supervivencia del feto depende de varios mecanismos:

- Supresión Fas dependiente de linfocitos T vírgenes evitando su activación, para permitir la tolerancia a los antígenos fetales del CMH tipo I paternos. La expresión del ligando Fas está regulada por células del trofoblasto fetal, Sanguansermsri y Pongcharoen (2008).
- Apoptosis de linfocitos T activados frente al feto vía ligando Fas, Koch y Platt (2007), Kanellopoulos-Langevin *et al.* (2003), Veenstra van Nieuwenhoven *et al.* (2003), Adams y Antczak (2001).
- Inhibición en general de los linfocitos T por la enzimaIDO producida por el trofoblasto y que degrada el triptófano presente en estos linfocitos, Guleria y Sayegh (2007), Koch y Platt (2007), Laskarin *et al.* (2007), Zenclussen (2006), Kanellopoulos-Langevin *et al.* (2003), Thellin y Heinen (2003), Adams y Antczak (2001), Mellor y Munn (2000).

Sin duda los linfocitos T presentan una gran capacidad inmunomoduladora en la gestación ya que son capaces de distinguir entre tejidos fetales (desencadenando la tolerancia frente a ellos) y tejidos de otros tipos como los alotrasplantes, dando lugar a su activación y por tanto presentando la posibilidad de rechazarlos, Bacon *et al.* (2002).

Una propiedad muy importante en la gestación es la estimulación de linfocitos T reguladores que presentan el marcador FoxP3 (Treg FoxP3+), los cuales se acumulan en la decidua y desarrollan una función supresora del sistema inmunitario materno. Su acumulación está en función de la proporción de antígenos fetales con los que la madre se enfrenta, siendo imprescindibles para el establecimiento de la tolerancia en la interfase materno-fetal, Kahn y Baltimore (2010), Guerin *et al.* (2009), Koch y Platt (2007). Como todos los linfocitos T reguladores, se forman en un principio en el timo, Guerin *et al.* (2009), pero como el timo

involuciona en adultos la mayor parte de las poblaciones de linfocitos Treg se desarrolla a partir de linfocitos T vírgenes (sin polarizar) tras el encuentro con el antígeno fetal en un microambiente tolerante. Estos se encargan de la inhibición y regulación de la proliferación y producción de citoquinas tanto por los linfocitos Th1 como por Th2, determinando el predominio de estas últimas. La inhibición de Th1 se da por contacto célula-célula o por la producción de citoquinas inmunosupresoras (IL-10 y TGF- β), De Mestre *et al.* (2010), Noronha y Antczak (2010), Guerin *et al.* (2009), Zenclussen (2006), Kanellopoulos-Langevin *et al.* (2003), Robertson (2000).

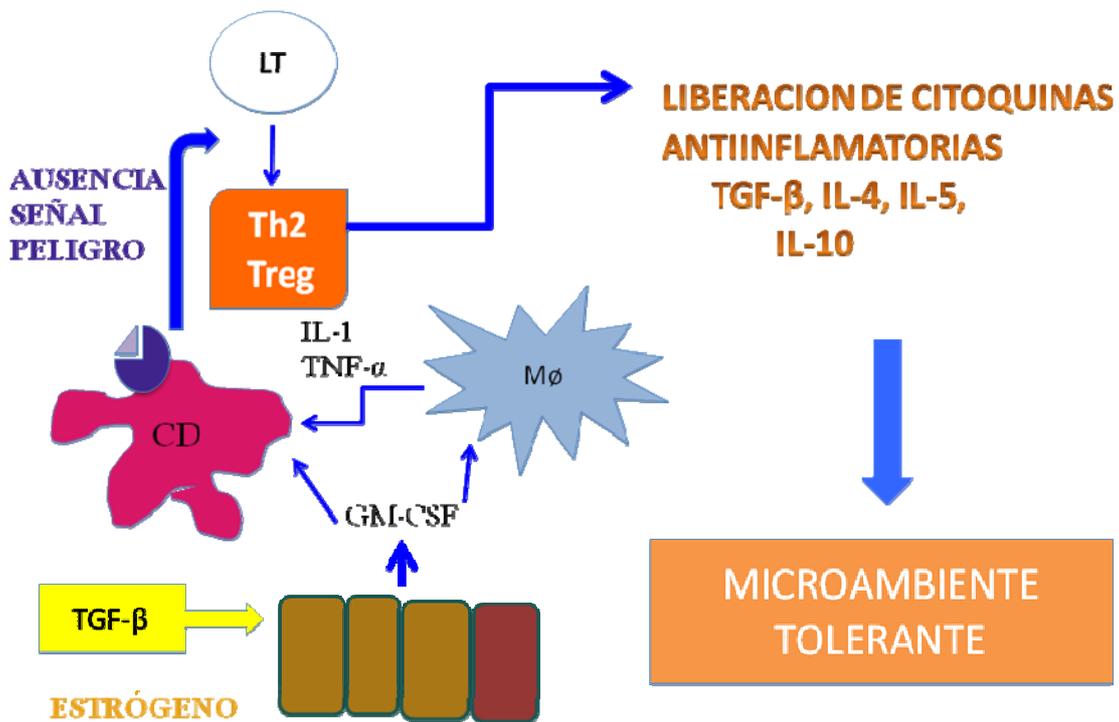


Figura 6: Primeras fases de la actuación en conjunto de las células y sustancias del sistema inmunitario durante la gestación. Desde el momento de la inseminación, las células epiteliales uterinas secretan GM-CSF bajo la influencia del estrógeno y del TGF- β del plasma seminal. Por lo tanto, hay reclutamiento de células dendríticas y macrófagos en el estroma endometrial. Los macrófagos a este nivel potenciarán el efecto del GM-CSF sobre las células dendríticas mediante la secreción de IL-1 y TNF- α , por lo que estas células captarán antígenos de origen fetal y madurarán. Contrariamente a lo esperado, al haber ausencia de una señal de “peligro” que alertaría de la presencia de un antígeno (ejemplo, producción de IFN- γ), éstas células dendríticas maduras activan linfocitos T para su diferenciación en Th2 y Treg, con funciones tolerogénicas y antiinflamatorias. Estos linfocitos son los responsables de la liberación masiva de citoquinas que crean un microambiente antiinflamatorio en el útero, preparándose para la implantación.

Todos estos mecanismos no actúan por separado, sino que están implicados en una amplia red de procesos interrelacionados que finalmente induce la tolerancia (Fig. 6 y 7), Robertson (2000).

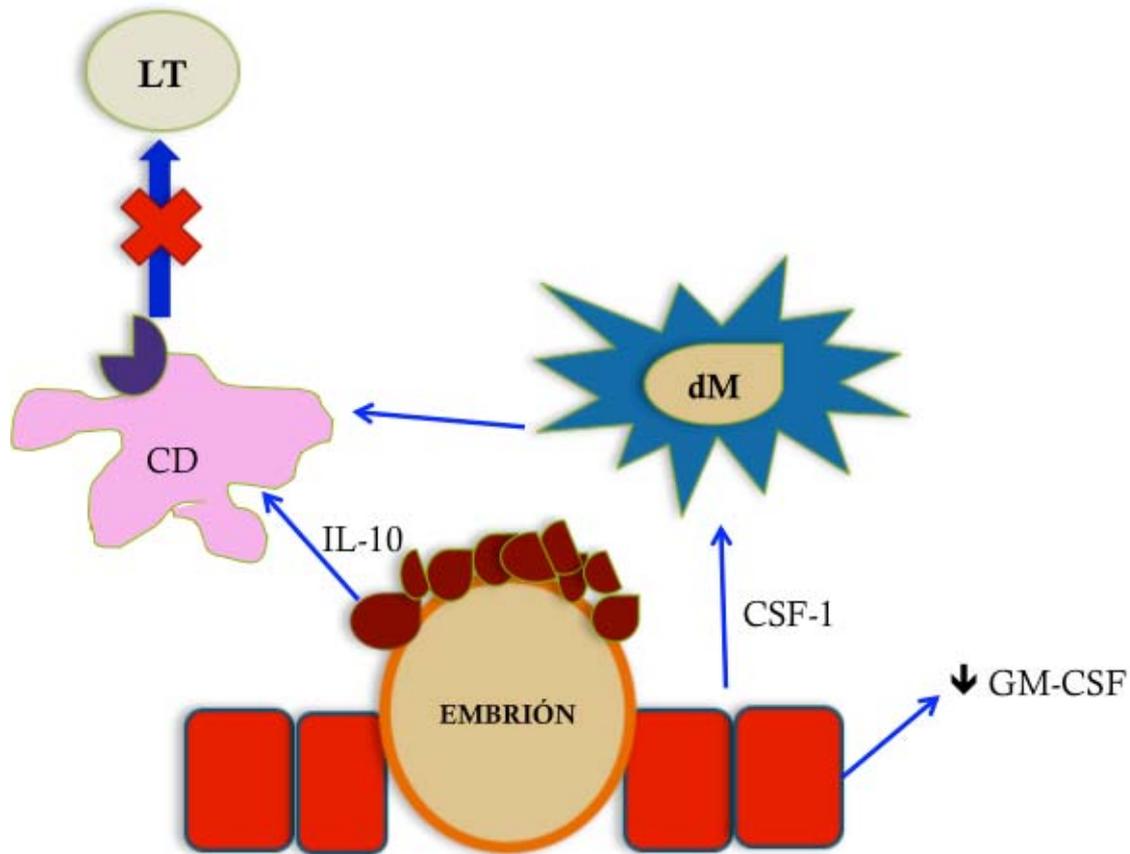


Figura 7: Fases posteriores de la actuación en conjunto de las células y sustancias del sistema inmunitario durante la gestación. Establecida la influencia de la progesterona, ésta inducirá la secreción de CSF-1 por las células epiteliales uterinas e IL-10 en el trofoblasto recién formado; estas citoquinas son las encargadas de inhibir la capacidad de las células dendríticas para activar a los linfocitos T. Por otro lado, los macrófagos reclutados serán antiinflamatorios y por añadidura, la progesterona disminuye la capacidad del epitelio uterino para producir GM-CSF, factor estimulante que favorecería la producción de monocitos y granulocitos, aumentando las características para conseguir un ambiente antiinflamatorio.

TOLERANCIA DIVIDIDA

Para asegurar la tolerancia materno-fetal hay un mecanismo más interesante todavía, observado en la mayoría de los mamíferos, que supone la represión regulada de la expresión de antígenos paternos del CMH tipo I por la placenta. Sin duda esto es una sutil estrategia para evitar el reconocimiento de estos por el sistema inmunitario materno, Noronha y Antczak

(2010), Koch y Platt (2007), Bacon *et al.* (2002), Allen (2001), Bainbridge (2000). En humanos esta regulación es importante debido a que la placenta hemocorial queda completamente expuesta a los vasos sanguíneos del endometrio materno, Guleria y Sayegh (2007), Bacon *et al.* (2002).

Ahora bien, el équido es una excepción ya que las cápsulas endometriales expresan gran concentración de moléculas del CMH tipo I, aunque en un periodo muy corto (30-45 días de gestación), De Mestre *et al.* (2010), Noronha y Antczak (2010), Bacon *et al.* (2002), Allen (2001), Bainbridge (2000). Como es lógico, esta expresión desencadena una respuesta inmunitaria de activación de linfocitos B que producen anticuerpos anti-antígenos paternos (que son detectados en el 100% de las hembras gestantes) y posteriormente atrae a un número muy alto de linfocitos Th y Tcitotóxicos (Tc) alrededor de las cápsulas, con objeto de eliminarlas. Pero sorprendentemente esta respuesta inmunitaria no desencadena la destrucción de las mismas, y esto es debido a que:

- Las células del trofoblasto de las cápsulas endometriales (en concreto las productoras de eCG) son capaces de autorregular la expresión de genes del CMH, tanto espacial como temporalmente. De esta forma, estas células autocontrolan la expresión espacial de los antígenos CMH paternos a una zona muy reducida y concreta, y aunque son expresados en los días 30-45 de gestación establecen su supresión en las cápsulas cuando éstas maduran (40-45 días), De Mestre *et al.* (2010).
- Durante el periodo que transcurre desde que se expresan los antígenos CMH paternos hasta que el trofoblasto invasivo regula esta expresión, se produce un reclutamiento masivo de linfocitos TregFOXP3+ en el lugar de invasión de las cápsulas. Estos linfocitos las mantienen invisibles a los linfocitos Tc, evitando la destrucción temprana de las mismas, De Mestre *et al.* (2010), Noronha y Antczak (2010), Bacon *et al.* (2002), Adams y Antczak (2001), Allen (2001). Hay que tener en cuenta que estas cápsulas endometriales son necesarias al ser las responsables de la producción de la gonadotropina coriónica equina (eCG),
- Los mecanismos locales de protección anteriormente vistos (citoquinas, células presentadores de antígeno,IDO, Fas, etc.) funcionan a pleno rendimiento, induciendo un ambiente tolerante. En dicho ambiente no se activan señales de peligro y por tanto la expresión de estas moléculas del CMH no desencadena una respuesta de rechazo, De Mestre *et al.* (2010).

Por tanto, las hembras equinas gestantes son capaces de desencadenar una respuesta inmunitaria de tipo humoral potente contra los antígenos paternos expresados en el trofoblasto fetal, y en contraste, son tolerantes en el sentido de la respuesta inmunitaria de base celular, De Mestre *et al.* (2010), Noronha y Antczak (2010), Bacon *et al.* (2002), Allen (2001). Este estado de tolerancia dividida tan pronunciada en los équidos es lo que más fascina del equilibrio materno-fetal por su complejidad y eficacia.

CONCLUSIÓN

En los mecanismos inmunitarios que se dan en la interfase materno-fetal quedan muchos factores por dilucidar. Una de las cuestiones más intrigantes es el desconocimiento del motivo por el que se produce la expresión de moléculas del CMH I en ciertas regiones del trofoblasto coriónico de los mamíferos, dado que lo más lógico sería reprimir totalmente esa expresión, de manera los antígenos fetales quedarían ocultos para el sistema inmunitario materno. En este sentido, el équido es el ejemplo más claro de tolerancia dividida, ya que hay un reconocimiento inmunitario materno de los aloantígenos paternos, pero el equilibrio inmunitario establecido evita el rechazo fetal. Estas características son las que permiten establecer un paralelismo con la gestación humana, destacando la importancia y utilidad del équido en las investigaciones sobre la inmunidad durante la gestación.

Esperamos que en un futuro se puedan dilucidar las preguntas que hasta hoy en día se encuentran sin respuesta, para que podamos entender mejor todos los mecanismos que establecen y mantienen el equilibrio inmunitario en la interfase materno-fetal.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Mar Blanco Cancelo del Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid, por su revisión del documento final del trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams AP, Antczak DF.** 2001. Ectopic transplantation of equine invasive trophoblast. *Biol Reprod.* 64: 753-763.
- Allen WR.** 2001. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. *Reproduction.* 121: 513-527.
- Arck P, Hansen PJ, Mulac Jericevic B, Piccinni M-P, Szekeres-Bartho J.** 2007. Progesterone during pregnancy: endocrine-immune cross talk in mammalian species and the role of stress. *Am J Reprod Immunol.* 58: 268-279. doi: 10.1111/j.1600-0897.2007.00512.x.
- Bacon SJ, Ellis SA, Antczak DF.** 2002. Control of expression of major histocompatibility complex genes in horse trophoblast. *Biol Reprod.* 66: 1612-1620.
- Bainbridge DRJ.** 2000. Evolution of mammalian pregnancy in the presence of the maternal immune system. *J Reprod Fertil.* 5:67-74.
- Bazer FW, Burghardt RC, Johnson GA, Spencer TE, Wu G.** 2008. Interferons and progesterone for establishment and maintenance of pregnancy: interactions among novel cell signaling pathways. *Reprod Biol.* 8(3): 179-206.
- Carter AM, Enders AC, Jones CJP, Mess A, Pfarrer C, Pijnenborg R, Soma H.** 2006. Comparative placentation and animal models: patterns of trophoblast invasion. *Placenta.* 27. Suppl A:S30-3. doi:10.1016/j.placenta.2006.01.008.
- Cuello, F.** 2007. Capítulo 1: Introducción. En: *Manual de Inmunología Veterinaria.* Coordinadoras: Gomez-Lucia, E., Blanco, MM y Doménech, A. Madrid. Ed. Pearson. Prentice Hall. 1-20.
- De Mestre A, Noronha L, Wagner B, Antczak DF.** 2010. Split immunological tolerance to trophoblast. *Int J Dev Biol.* 54:445-455. doi: 10.1387/ijdb.082795ad.
- Domenech, A.** 2007. Capítulo 24: Inmunidad en el feto y el neonato. En: *Manual de Inmunología Veterinaria.* Coordinadoras: Gomez-Lucía, E., Blanco, MM y Doménech, A. Madrid. Ed. Pearson. Prentice Hall. 491-512.
- Garcia JA.** 2007. Capítulo 12: Citoquinas. En: *Manual de Inmunología Veterinaria.* Coordinadoras: Gomez-Lucia, E. Blanco MM y Doménech, A. Madrid: Ed. Pearson. Prentice Hall. 209-228.
- Guerin LR, Prins JR, Robertson SA.** 2009. Regulatory T-cells and immune tolerance in pregnancy: a new target for infertility treatment? *Hum Reprod Embriol.* 15(5): 517-535. doi: 10.1093/humupd/dpm004.

- Guleria I, Sayegh MH.** 2007. Maternal acceptance of the fetus: true human tolerance. *J Immunol.* 178: 3345-3351.
- Kahn DA, Baltimore D.** 2010. Pregnancy induces a fetal antigen-specific maternal T regulatory cell response that contributes to tolerance. *PNAS.* 107(20): 9299-304 doi: 10.1073/pnas.1003909107.
- Kanellopoulos-Langevin C, Caucheteux SM, Verbeke P, Ojcius D.** 2003. Tolerance of the fetus by the maternal immune system: role of inflammatory mediators at the fetomaternal interface. *Reprod Biol Endocrinol.* 1:121.
- King GJ.** 1993. Comparative placentation in ungulates. *J Experim Zool.* 266: 588-602.
- Koch CA, Platt JL.** 2007. T cell recognition and immunity in the fetus and mother. *Cell Immunol.* 248(1): 12-17. doi: 10.1016/j.cellimm.2007.05.006.
- Laskarin G, Kämmerer U, Rukavina D, Thomson AW, Fernandez N, Blois SM.** 2007. Antigen-presenting cells and materno-fetal tolerance: an emerging role for dendritic cells. *Am J Reprod Immunol.* 58: 255-267. doi: 10.1111/j.1600-0897.2007.00511.x.
- Mellor AL, Munn DH.** 2000. Immunology at the maternal-fetal interface: Lessons for T cell tolerance and suppression. *Annu Rev Immunol.* 18: 367-391.
- Moffet A, Loke C.** 2006. Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nature.* 6: 584-595. doi: 10.1038/nri1897.
- Noden DM, Lahunta A.** 2001. Capítulo 3: Membranas extraembrionarias y placentación. En: *Embriología de los animales domésticos.* Zaragoza: Acribia, 53-76.
- Noronha L, Antczak DF.** 2010. Maternal immune responses to trophoblast: the contribution of the horse to pregnancy immunology. *Am J Reprod Immunol.* 64: 231-244. doi: 10.1111/j.1600-0879.2010.00895.x.
- Renaud SJ, Graham CH.** 2008. The role of macrophages in utero-placental during normal and pathological pregnancy. *Immunol Invest.* 37: 535-564. doi: 10.1080/08820130802191375.
- Robertson SA.** 2000. Control of the immunological environment of the uterus. *J Reprod Fertil.* 5: 164-174.
- Sadler TW.** 2007. Capítulo 7: Tercer mes al nacimiento: feto y la placenta. En: *Langman Embriología Médica con orientación clínica 10ª Edición.* Buenos-Aires: Panamerica, 91-111.
- Sanguanserm Sri D, Pongcharoen S.** 2008. Pregnancy immunology: decidual immune cells. *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology.* 26: 171-181.

- Szekeres-Bartho J.** 2002. Immunological relationship between the mother and the fetus. *Intern Rev Immunol.* 21: 471-495. doi: 10.1080/08830180190048172.
- Thellin O, Heinen E.** 2003. Pregnancy and the immune system: between tolerance and rejection. *Toxicology* 185: 179-184.
- Tizard IR.** 2009. Capítulo 6: Señalización celular: Las citoquinas y sus receptores. Capítulo 8: Las células dendríticas y el procesamiento de antígenos. En: *Introducción a la Inmunología Veterinaria 8ª Edición.* Barcelona: Elsevier Saunders, 89-100.
- Veenstra van Nieuwenhoven AL, Heineman MJ, Faas MM.** 2003. The immunology of successful pregnancy. *Hum Reprod Embriol.* 9(4): 347-357. doi: 10.1093/humupd/dmg026.
- Zenclussen AC.** 2006. Regulatory T cells in pregnancy. *Springer Semin Immunol.* 28:31-39. doi: 10.1007/s00281-006-0023-6.