

Expresión de moléculas de adhesión celular en la interfase materno-fetal al término de la gestación humana*

Rodrigo Vega-Sánchez,* Elizabeth de Jesús-Torres,* Marcia Arenas-Hernández,* Jorge Beltrán-Montoya,** Rolando Maida-Claros,*** Guadalupe Estrada-Gutiérrez,**** Felipe Vadillo-Ortega¹

Nivel de evidencia: II-1

RESUMEN

Antecedentes: el trabajo de parto humano es un proceso de tipo inflamatorio modulado por leucocitos que invaden los tejidos gestacionales. El incremento local de moléculas de adhesión celular (CAMs) favorece la permanencia de estos leucocitos en la coriodecidua. Los tejidos gestacionales expresan ICAM-1, mientras que los leucocitos circulantes expresan su ligando Mac-1.

Objetivo: analizar, primero, si la expresión de CAMs en las membranas fetales está asociada al progreso de la edad gestacional; y, segundo, la expresión de CAMs en los leucocitos de la circulación intrauterina (placenta).

Material y método: estudio cerrado realizado en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Se incluyeron muestras provenientes de mujeres sanas de entre 15 y 44 años de edad con embarazos a término (≥ 37 semanas de gestación).

Resultados: el análisis por PCR en tiempo real mostró que la expresión de CAMs en las membranas fetales permaneció constante antes del trabajo de parto. ICAM1 e ICAM3 mostraron una tendencia al incremento durante el trabajo de parto, mientras que ICAM2, VCAM1, SELP y SELE disminuyeron conforme avanzaba la edad gestacional. Los leucocitos placentarios mostraron un claro incremento en la expresión de ITGAM (Mac-1) durante el trabajo de parto.

Conclusiones: estos resultados muestran que en la interfase materno-fetal se expresa una combinación específica de CAMs durante el trabajo de parto, incluidos ICAM-1, ICAM-3 y Mac-1. La expresión de estas moléculas podría promover la permanencia de los leucocitos en los tejidos locales para modular el microambiente inflamatorio local durante el trabajo de parto humano.

Palabra clave: adhesión celular, CAMs, trabajo de parto, leucocitos.

ABSTRACT

Background: The human labor is an inflammatory process invading leukocytes modulated by gestational tissues. The local increase of cell adhesion molecules (CAMs) promotes the permanence of these leukocytes in the coriodecidua. Gestational tissues express ICAM-1, while circulating leukocytes expressing its ligand Mac-1.

Objective: To analyze, first, if the expression of CAMs in the fetal membranes is associated with progress of gestational age, and second, the expression of CAMs on circulating leukocytes in the uterus (placenta).

Material and method: original and closed study conducted at the Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (Mexico City). We included samples from healthy women between 15 and 44 years of age with term pregnancies (≥ 37 weeks gestation).

Results: Real time PCR analysis showed that the expression of CAMs in the fetal membranes remained constant before labor. ICAM3 and ICAM1 tended to increase during labor, while ICAM2, VCAM1, SELE and SELP decrease with advancing gestational age. Placental leukocytes showed a clear increase in the expression of ITGAM (Mac-1) during labor.

Conclusions: These results show that the maternal-fetal interface expresses a specific combination of CAMs during labor, including ICAM-1, ICAM-3 and Mac-1. The expression of these molecules could promote the retention of leukocytes in the local tissues to modulate the local inflammatory microenvironment during human labor.

Key words: cell adhesion molecules, CAMs, labor, leukocytes.

RÉSUMÉ

Antécédents: le travail d'accouchement humain est un processus de type inflammatoire modulé par leucocytes qui envahissent les tissus gestatoires. L'augmentation locale de molécules d'adhésion cellulaire (CAMs) favorise la permanence de ces leucocytes dans la choriodécidue. Les tissus gestatoires expriment ICAM-1, tandis que les leucocytes circulants expriment leur ligand Mac-1.

Objectif: analyser, d'abord, si l'expression de CAMs dans les membranes fœtales est associée au progrès de l'âge gestatoire; et, après, l'expression de CAMs en leucocytes présents dans la circulation intra-utérine (placenta).

Matériel et méthode: étude originelle et fermée, réalisée à l'Institut National de Péritnatalogie Isidro Espinosa de los Reyes (à Mexico). On a inclus des échantillons provenant de femmes en bonne santé d'entre 15 et 44 ans avec grossesses à terme (≥ 37 semaines de gestation).

Résultats: l'analyse par PCR temps réel a montré que l'expression de CAMs dans les membranes fœtales est restée constante avant le travail d'accouchement. ICAM1 et ICAM3 ont montré une tendance à augmenter pendant le travail d'accouchement, tandis qu'ICAM2, VCAM1, SELP et SELE ont diminué selon l'avancement de l'âge gestatoire. Les leucocytes placentaires ont montré une claire augmentation dans l'expression d'ITGAM (Mac-1) pendant le travail d'accouchement.

Conclusions: ces résultats montrent que dans l'interphase materno-fœtale s'exprime un mélange spécifique de CAMs pendant le travail d'accouchement, inclus ICAM-1, ICAM-3 et Mac-1. L'expression de ces molécules pourrait promouvoir la permanence des leucocytes dans les tissus locaux pour moduler le microenvironnement inflammatoire local pendant le travail d'accouchement humain.

Mots-clés: adhésion cellulaire, CAMs, travail d'accouchement, leucocytes.

RESUMO

Antecedentes: O trabalho de parto humano é um processo do tipo inflamatório modulado por leucócitos que invadem os tecidos gestacionais. O incremento local de moléculas de adesão celular (CAMs) favorece a permanência desses leucócitos na cório-decidua. Os tecidos gestacionais expressam ICAM-1, enquanto que os leucócitos circulantes expressam ligando Mac-1.

Objetivo: Analisar. Primeiro, se a expressão de CAMs nas membranas fetais está associada ao progresso de idade gestacional; segundo, se a expressão de CAMs em leucócitos existentes na circulação intra-uterina (placenta).

Material e método: Estudo original e fechado realizado no Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa dos Reyes (México-DF). Foram incluídas amostras provenientes de mulheres saudáveis entre 15 e 44 anos de idade com gestações a término (≥ 37 semanas de gestação).

Resultados: A análise por PCR tempo real mostrou que a expressão de CAMs nas membranas fetais permaneceu constante antes do trabalho de parto. ICAM2, VCAM1, SELP e SELE diminuíram conforme avançava a idade gestacional. Os leucócitos placentários mostraram um claro incremento na expressão de ITGAM (Mac-1) durante o trabalho de parto.

Conclusões: Esses resultados mostram que a interfase materno-fetal expressa uma combinação específica de CAMs durante o trabalho de parto, incluídos ICAM1, ICAM3 e Mac-1. A expressão dessas moléculas poderia promover a permanência dos leucócitos nos tecidos locais para modular o micro-ambiente inflamatório local durante o trabalho de parto humano.

Palavras-chave: adesão celular, CAMs, trabalho de parto, leucócitos.

* Departamento de Investigación en Nutrición.

** Unidad de Tococirugía.

*** Departamento de Neonatología.

**** Departamento de Infectología.

Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, México, DF.

¹ Departamento de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF.

Correspondencia: Dr. Rodrigo Vega Sánchez. Subdirección de Investigación en Salud Pública, Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Montes Urales 800, colonia Lomas Virreyes, Mexico 11000, DF. Correo electrónico: r.vega@servidor.inper.edu.mx

Recibido: agosto, 2010. Aprobado: octubre, 2010.

* Artículo premiado con el segundo lugar al trabajo científico Dr. Alfonso Álvarez Bravo presentado en el LXI Congreso Mexicano de Ginecología y Obstetricia 2010, que se celebró en la ciudad de Chihuahua los pasados 26 al 30 de octubre.

Este artículo debe citarse como: Vega-Sánchez R, De Jesús-Torres E, Arenas-Hernández M, Beltrán-Montoya J y col. Expresión de moléculas de adhesión celular en la interfase materno fetal al término de la gestación humana. Ginecol Obstet Mex 2010;78(12):677-684.

Diversas evidencias indican que el trabajo de parto normal en la mujer es un proceso inflamatorio, caracterizado por el aumento local de diversas moléculas efectoras: citocinas proinflamatorias, quimiocinas, prostaglandinas y metaloproteasas de matriz extracelular.¹ Se ha propuesto que la mayor cantidad de estas moléculas proviene del infiltrado leucocitario que invade los tejidos gestacionales durante el trabajo de parto, aun en ausencia de infección.^{2,3}

Recientemente describimos que las membranas fetales pueden inducir quimiotaxis de leucocitos durante el trabajo de parto, y que los leucocitos de la sangre placentaria poseen mayor perfil proinflamatorio que los leucocitos de sangre periférica materna.⁴⁻⁶ Estos hallazgos sugieren que durante el trabajo de parto normal los leucocitos son reclutados al compartimiento corioidecidual, donde podrían modular el proceso inflamatorio local.

La permanencia de leucocitos en la corioidecidua debe estar favorecida por el incremento local de moléculas de

adhesión celular (CAMs, por sus siglas en inglés). La molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1) es la más estudiada en este contexto. Su expresión se incrementa en las células endoteliales de la placenta, en el amnios y en la coriodecidua con el trabajo de parto; incluso, se ha descrito que tiene cierto valor predictivo para parto pretérmino al medirse en el líquido cervicovaginal.⁷⁻¹¹

El análisis de CAMs en los leucocitos de sangre periférica materna ha mostrado cambios relacionados con el trabajo de parto. Se han estudiado la selectina L (CD62L), que participa en las primeras interacciones de los leucocitos con el endotelio vascular y las integrinas LFA-1 (CD11a) y Mac-1 (CD11b), que son los ligandos o correceptores de la molécula ICAM-1 y, por tanto, constituyen el complemento indispensable para el reclutamiento y permanencia de los leucocitos en los sitios de inflamación.¹²

Está demostrado que durante el trabajo de parto la cantidad de células positivas para Mac-1, y la intensidad en la expresión de esta molécula, aumentan en los monocitos y en los granulocitos de la sangre periférica materna.^{13,14}

En este trabajo estudiamos dos aspectos de la expresión de las CAMs en la interfase materno-fetal en el término de la gestación. Además, analizamos si el incremento en la expresión de CAMs en la coriodecidua es un proceso gradual que se desarrolla progresivamente al término de la gestación, en preparación para el inicio del trabajo de parto, o si es una consecuencia de éste. También analizamos la expresión de Mac-1 en leucocitos de sangre placentaria en comparación con la de los leucocitos de sangre periférica materna, con el fin de establecer si las células que circulan en el ambiente intrauterino son capaces de responder a las señales de reclutamiento expresadas por las membranas corioamnióticas.

MATERIAL Y MÉTODO

Selección de pacientes

Los criterios de inclusión y procedimientos de toma de muestras de este proyecto los aprobaron los Comités de Investigación y Ética del Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (Núm. 212250-02151). Todas las pacientes dieron su consentimiento informado antes de la toma de las muestras.

Se incluyeron muestras provenientes de mujeres sanas entre 15 y 44 años de edad, con embarazos a término (≥ 37 semanas de gestación). Se excluyeron las pacientes con

embarazos múltiples o con alguna enfermedad, especialmente infección vaginal o intrauterina, diabetes mellitus o diabetes gestacional, preeclampsia o enfermedades autoinmunitarias.

Membranas fetales

Para analizar el incremento gradual de la expresión de CAMs en las membranas fetales al término de la gestación, éstas se recolectaron inmediatamente después del alumbramiento de la placenta y se transportaron al laboratorio en un contenedor estéril. Las membranas se lavaron con solución salina estéril, y un pedazo de tejido de aproximadamente 5 cm^2 se colocó inmediatamente en RNAlater (Ambion, Austin, TX, EUA) y se almacenó a -20°C hasta su uso.

Las muestras de membranas fetales se clasificaron en cinco grupos de estudio correspondientes a las semanas de gestación de las pacientes, calculadas a partir de la fecha de la última menstruación.

Los primeros cuatro grupos incluyeron muestras de pacientes que llevaron a término su embarazo por cesárea electiva, sin trabajo de parto. El quinto grupo incluyó muestras de pacientes con trabajo de parto activo, independientemente de la edad gestacional o de la forma de resolución (Cuadro 1).

Cuadro 1. Muestras de membranas fetales

Grupo	Semanas de gestación	n
1	37	7
2	38	10
3	39	7
4	40	5
5	Con trabajo de parto	7

Leucocitos de sangre placentaria y periférica materna

Para analizar la expresión de CAMs en leucocitos de circulación intrauterina se obtuvieron muestras de sangre placentaria de las pacientes participantes, y de sangre periférica como grupo de comparación.

Las muestras de sangre placentaria se obtuvieron en los primeros 30 minutos posteriores al alumbramiento de la placenta. Para la obtención de estas muestras se exprimió manualmente la cara materna de los cotiledones de la placenta, y se recuperó la sangre que drenaba con pipetas estériles desechables. La sangre (5 mL) se depositó inme-

diatamente en tubos estériles con anticoagulante (heparina de sodio o EDTA).

Las muestras de sangre periférica materna se obtuvieron durante el procedimiento obstétrico (cesárea o parto vaginal), o inmediatamente después de éste. La sangre (5 mL) se obtuvo mediante punción venosa en el antebrazo de las pacientes y se depositó inmediatamente en tubos estériles con anticoagulante.

A partir de las muestras de sangre placentaria y periférica se aislaron los leucocitos totales por medio de gradiente de densidad, con el reactivo Polymorphprep (Axis-Shield, Oslo, Noruega), se siguieron las instrucciones del fabricante.

Al formarse el gradiente se obtuvieron dos bandas de células correspondientes a los leucocitos mononucleares y a los polimorfonucleares, respectivamente; en todos los casos se recuperaron ambas bandas para tener el paquete leucocitario completo.

Los eritrocitos residuales se eliminaron resuspendiendo el paquete celular en un amortiguador de cloruro de amonio (cloruro de amonio 150 mM, bicarbonato de potasio 10 mM, EDTA 0.1 mM) durante 10 minutos a temperatura ambiente; finalmente los leucocitos se lavaron con PBS estéril.

Las muestras de leucocitos periféricos y placentarios se dividieron en dos grupos de estudio: grupo 1: sin trabajo de parto (n = 6), y grupo 2: con trabajo de parto (n = 8).

Aislamiento de ARN y síntesis de ADNc

El ARN total de las membranas fetales y de los leucocitos periféricos y placentarios se aisló con el reactivo Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), según las instrucciones del fabricante. Después del aislamiento del ARN, las muestras se trataron con DNasa I, seguido de la inactivación de la DNasa, para eliminar la posible contaminación con ADN genómico.

El ADN complementario (ADNc) se sintetizó a partir del ARN total con el equipo *Transcriptor First Strand cDNA Synthesis Kit* (Roche Applied Science, Mannheim); se usaron hexámeros al azar como iniciadores, en un termociclador Mastercycler Gradient equipment (Eppendorf, Hamburgo, Alemania) a 25 °C - 10 min / 55 °C - 30 min / 85 °C - 5 min. El ADNc se almacenó a -20 °C hasta su uso.

Expresión relativa de las CAMs

La expresión de las CAMs se analizó por PCR semi-quantitativa en tiempo real en un equipo *Light Cycler 2.0*,

con el equipo *Light Cycler TaqMan Master* y las sondas de hidrólisis TaqMan siguiendo los protocolos del fabricante (Roche Applied Science).

En las membranas fetales se analizó la expresión de los genes ICAM1, ICAM2, ICAM3, VCAM1, SELE (selectina E) y SELP (selectina P); en los leucocitos periféricos y placentarios se analizó la expresión de los genes ITGAL (LFA-1) e ITGAM (Mac-1). En todos los casos se usó el gen GAPDH como referencia para calcular la expresión relativa.

Para las reacciones de PCR se diseñaron iniciadores específicos para cada uno de los genes con el programa ProbeFinder, disponible en www.universalprobelibrary.com. El cuadro 2 muestra las secuencias de los iniciadores y los números de sondas utilizados en este estudio. Todos los iniciadores se diseñaron para contener secuencias de unión de intrones, con el fin de evitar falsos positivos provenientes de cualquier residuo de ADN genómico. Las condiciones de la PCR en tiempo real fueron: un ciclo a 95 °C - 10 min; 45 ciclos de desnaturalización (95 °C - 10 seg), alineamiento (60 °C - 30 seg) y extensión (72 °C - 1 seg).

Análisis estadísticos

Las diferencias estadísticas entre los grupos de estudio se analizaron con la prueba de Mann-Whitney, se utilizó el programa SPSS v. 12. Los valores de *p* menores de 0.05 se consideraron significativos.

RESULTADOS

CAMs en membranas fetales

La expresión de las CAMs analizadas en las membranas fetales permaneció relativamente constante conforme avanzaba la edad gestacional. No se observó diferencia en la expresión de ICAM1 a lo largo de las semanas de gestación, pero sí una clara tendencia a aumentar en las muestras provenientes de pacientes con trabajo de parto. Este mismo comportamiento se observó en el caso de ICAM3 (Figura 1).

Las expresiones relativas de ICAM2, VCAM1 y SELP mostraron una tendencia evidente a disminuir conforme avanzaba la edad gestacional, la cual sólo fue significativa en el caso de ICAM2 al comparar las muestras con trabajo de parto con las muestras de pacientes en la semana 37 de gestación (Figura 1).

Cuadro 2. Secuencias de iniciadores y números de sondas

Gen	Sonda TaqMan	Iniciador sentido	Iniciador antisentido
ICAM1	71	5' - ccttcctcaccgtgtactgg -3'	5' - agcgtagggtaagggtctgc- 3'
ICAM2	75	5' - caatgaatccaaacgtcagc -3'	5' - accaaagtgggtgcagtgt- 3'
ICAM3	40	5' - ggtaatccatccgtgtgg -3'	5' - gaactctgcccctggac- 3'
VCAM1	39	5' - tgaatcttagaaatggaaaaagg -3'	5' - tgaatctctggatccttagaaaa- 3'
SELE	27	5' - gcaagaagaagctgccta -3'	5' - tggccactgcaggatgtat- 3'
SELP	67	5' - cttcaggacaatggacagc -3'	5' - tggtagttctgagcattcacagc- 3'
ITGAL	26	5' - ccacagatggaaagcatttg-3'	5' - gtgttctggtcacacgtcg-3'
ITGAM	9	5' - ggcattccaaatggta-3'	5' - ggatctaaaggcattcttcg-3'
GAPDH	60	5' - gcccacatcgctcagacac- 3'	5' - gccaatacgcaccaaatcc- 3'

La expresión de SELE permaneció constante independientemente de la edad gestacional y del trabajo de parto, aunque fue significativamente menor en las muestras de pacientes con 40 semanas de gestación ($p = 0.016$) (Figura 1).

CAMs en leucocitos placentarios y periféricos

Al analizar la expresión de CAMs en leucocitos circulantes en la sangre placentaria y periférica, no se observaron diferencias en la expresión de ITGAL, ya sea antes o durante el trabajo de parto (Figura 2).

La expresión de ITGAM fue significativamente mayor en los leucocitos periféricos antes del trabajo de parto, comparada con los leucocitos placentarios ($p = 0.01$). Sin embargo, esta diferencia no se observó durante el trabajo de parto, debido a un incremento en la expresión de ITGAM en los leucocitos placentarios que, aunque fue evidente, no alcanzó significación estadística (Figura 2).

DISCUSIÓN

El trabajo de parto de la mujer es el resultado de la generación de un microambiente inflamatorio en el espacio coriodecidual, ambiente modulado principalmente por leucocitos infiltrantes. En este contexto, se ha observado que la expresión de algunas CAMs aumenta durante el trabajo de parto, de ahí que se haya propuesto como un mecanismo de permanencia de dichos leucocitos infiltrantes.

En este trabajo estudiamos, por un lado, la expresión de CAMs en membranas fetales asociada con el avance de la gestación y, por otro lado, la expresión de CAMs en leucocitos que circulan en el ambiente intrauterino.

En el caso de las membranas fetales, nuestro diseño experimental demostró que el incremento en la expresión

de las CAMs estudiadas no es un proceso gradual asociado con el progreso de la gestación, sino que depende de la existencia del trabajo de parto, lo que fue evidente en el caso de ICAM1 e ICAM3.

El incremento en la expresión de la molécula ICAM-1 asociado con el trabajo de parto ha sido reportado en células endoteliales de la placenta, en el amnios y en la coriodecidua; e incluso se ha descrito que tiene cierto valor predictivo para parto pretérmino, al medirse en el líquido cervicovaginal.⁷⁻¹¹

La expresión de ICAM-3, particularmente en los linfocitos T, está involucrada en la presentación de antígeno, participando en la interacción de estos linfocitos con las células presentadoras de antígeno. Además, ICAM-3 favorece la unión de ICAM-1 y su receptor LFA-1.¹⁵ En este sentido, la mayor expresión de ICAM-3 en las membranas fetales durante el trabajo de parto podría sugerir que hay más linfocitos T infiltrados, lo que coincide con reportes anteriores de nuestro grupo y de otros.^{4,16,17}

Nuestros resultados sugieren, también, que durante el trabajo de parto humano la participación de otras CAMs –como ICAM-2, VCAM-1, selectina P y selectina E– no parece ser importante, si se considera que su expresión permanece constante en las membranas fetales, e incluso tiende a disminuir.

El análisis de la expresión de las moléculas de adhesión LFA-1 y Mac-1 (ligandos de la ICAM-1 que expresan los tejidos gestacionales durante el trabajo de parto), mostró un claro incremento en la expresión de ITGAM, el gen que codifica para Mac-1 en los leucocitos placentarios. Este incremento se ha reportado anteriormente en los monocitos y granulocitos de la sangre periférica materna al término de la gestación.^{13,14}

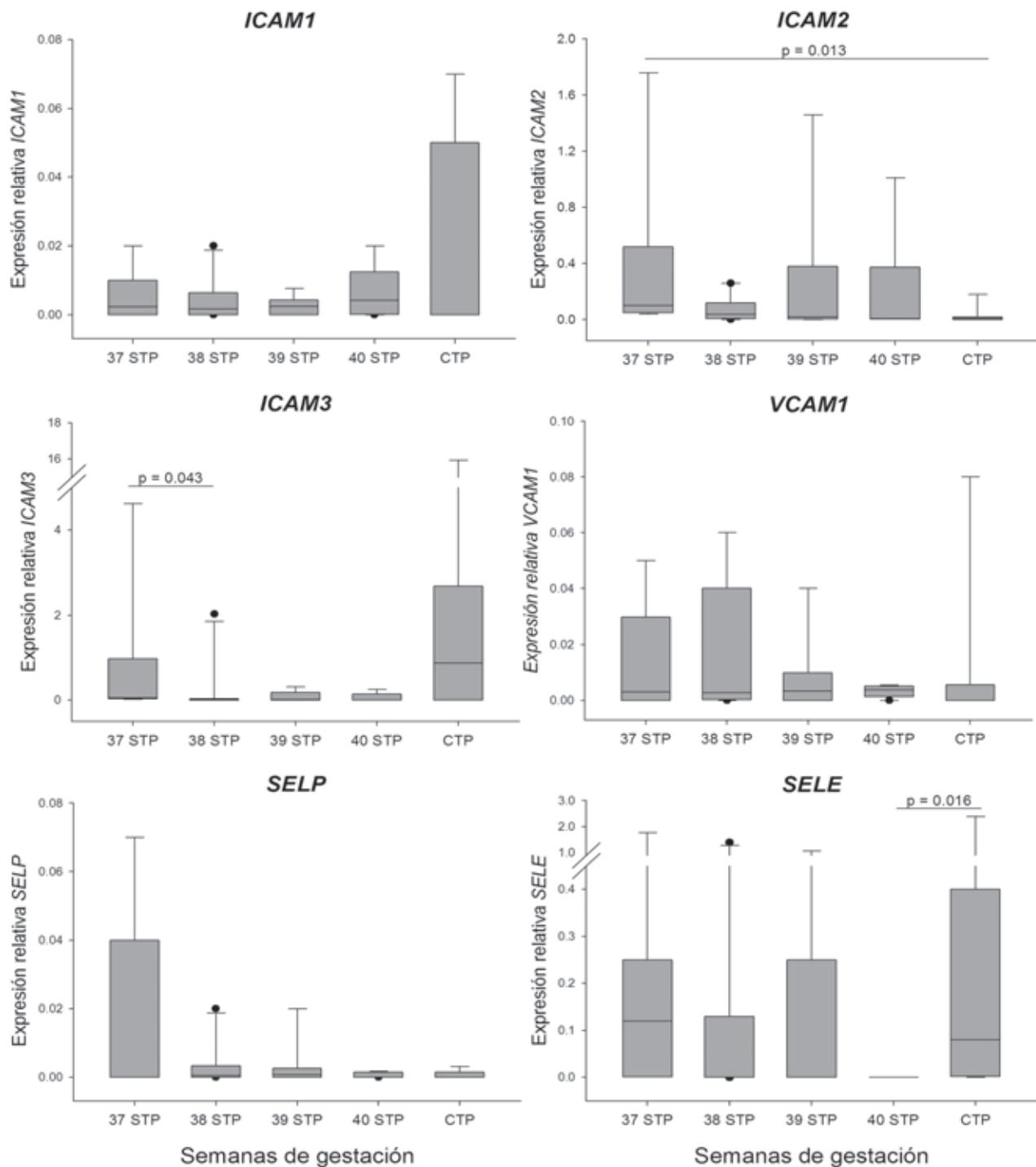


Figura 1. Expresión de moléculas de adhesión celular en membranas fetales humanas al término de la gestación.

Las líneas horizontales representan los valores de las medianas de expresión relativa con los percentiles 25/75 (cajas) y los percentiles 5/95 (líneas verticales). Los puntos negros representan valores atípicos.

STP: sin trabajo de parto; CTP: con trabajo de parto. En todos los casos: 37 STP, n = 7; 38 STP, n = 10; 39 STP, n = 7; 40 STP, n = 5; CTP, n = 7.

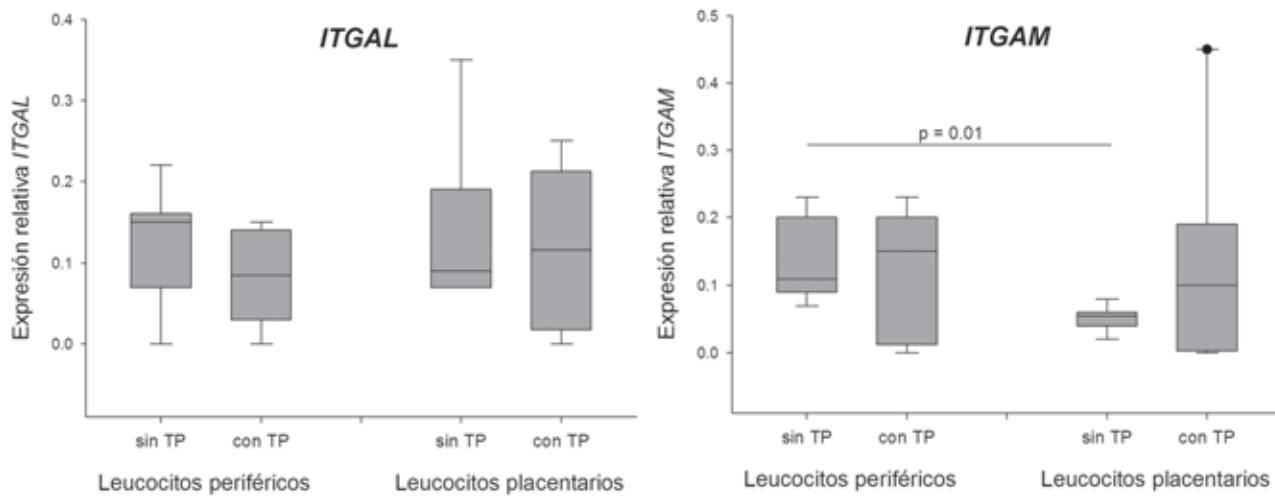


Figura 2. Expresión génica de ITGAL e ITGAM en leucocitos periféricos y placentarios al término de la gestación.

TP: trabajo de parto; n = 6 sin TP; n = 8 con TP. Las líneas horizontales representan los valores de las medianas de expresión relativa con los percentiles 25/75 (cajas) y los percentiles 5/95 (líneas verticales). Los puntos negros representan valores atípicos.

Lo anterior sugiere que mientras los leucocitos de la sangre periférica materna podrían aumentar su expresión de Mac-1, como resultado del avance de la gestación, los leucocitos que circulan en la placenta incrementan dicha expresión exclusivamente como respuesta a señales asociadas con el trabajo de parto, lo que permitiría específicamente a estos leucocitos interactuar con las células locales que estuvieran expresando ICAM-1. La interacción molecular entre los leucocitos placentarios infiltrantes y las células coriodeciduales podría resultar en la amplificación de la red de señales que promueven el trabajo de parto.

En conjunto, nuestros resultados apoyan la hipótesis de que en la interfase materno-fetal al término de la gestación, y particularmente durante el trabajo de parto, se expresa una combinación específica de CAMs, incluidas ICAM-1, ICAM-3 y Mac-1. La expresión de estas moléculas no está asociada con el avance en la edad gestacional, sino exclusivamente con el trabajo de parto. Esta expresión selectiva de CAMs promovería el reclutamiento y permanencia de leucocitos a la coriodecidua, los que podrían modular el microambiente inflamatorio local durante el trabajo de parto.

Agradecimientos

Agradecemos a Lourdes Vadillo Pérez por su ayuda en la recolección de las muestras de membranas fetales.

REFERENCIAS

1. Vega Sánchez R, Vadillo Ortega F. Fisiopatología del nacimiento pretérmino. *Ginecol Obstet Mex* 2007;75(S1):S14-S19.
2. Thomson AJ, Telfer JF, Young A, Campbell S, et al. Leukocytes infiltrate the myometrium during human parturition: further evidence that labour is an inflammatory process. *Hum Reprod* 1999;14(1):229-236.
3. Young A, Thomson AJ, Ledingham M, Jordan F, et al. Immunolocalization of proinflammatory cytokines in myometrium, cervix, and fetal membranes during human parturition at term. *Biol Reprod* 2002;66(2):445-449.
4. Gomez-Lopez N, Estrada-Gutierrez G, Jimenez-Zamudio L, Vega-Sánchez R, Vadillo-Ortega F. Fetal membranes exhibit selective leukocyte chemotactic activity during human labor. *J Reprod Immunol* 2009;80(1):122-131.
5. Vega-Sánchez R, Gomez-Lopez N, Flores-Pliego A, Clemente-Galvan S, et al. Placental blood leukocytes are functional and phenotypically different than peripheral leukocytes during human labor. *J Reprod Immunol* 2010;84(1):100-110.
6. Vega Sánchez R, Estrada Gutiérrez G, Cérbulo Vázquez A, Beltrán Montoya J, Vadillo Ortega F. Caracterización del espacio coriodecidual como un microambiente rico en moléculas efectoras que inducen la rotura de las membranas corioamnióticas durante el trabajo de parto. *Ginecol Obstet Mex* 2004;72:593-601.
7. Steinborn A, Sohn C, Heger S, Niederhut A, et al. Labour-associated expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in placental endothelial cells indicates participation of immunological processes in parturition. *Placenta* 1999;20(7):567-573.
8. Marvin KW, Keelan JA, Sato TA, Coleman MA, et al. Enhanced expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in

- amnion with term and preterm labour. *Placenta* 2000;21(1):115-121.
9. Marvin KW, Keelan JA, Sato TA, Coleman MA, et al. Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in choriodecidua with labour and delivery at term and preterm. *Reprod Fertil Dev* 1999;11(4-5):255-262.
 10. Osman I, Crawford M, Jordan F, Young A, et al. Expression and localization of cell adhesion molecules in human fetal membranes during parturition. *J Reprod Immunol* 2004;63(1):11-21.
 11. Marvin KW, Keelan JA, Coleman MA, McCowan LM, et al. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in cervicovaginal fluid of women presenting with preterm labor: predictive value for preterm delivery. *Am J Reprod Immunol* 2000;43(5):264-271.
 12. Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ, editors. *Innate Immunity*. In: *Immunobiology: the immune system in health and disease*. Nueva York: Garland Science Publishing, 2005;p:37-100.
 13. Luppi P, Irwin TE, Simhan H, Deloia JA. CD11b Expression on circulating leukocytes increases in preparation for parturition. *Am J Reprod Immunol* 2004;52(5):323-329.
 14. Yuan M, Jordan F, McInnes IB, Harnett MM, Norman JE. Leukocytes are primed in peripheral blood for activation during term and preterm labour. *Mol Hum Reprod* 2009;15(11):713-724.
 15. Montoya MC, Sancho D, Bonello G, Collette Y, et al. Role of ICAM-3 in the initial interaction of T lymphocytes and APCs. *Nat Immunol* 2002;3(2):159-168.
 16. Gomez Lopez NY, Estrada-Gutierrez G, Vadillo-Perez L, Vadillo-Ortega F. Changes in Leukocyte Subpopulations in the Choriodecidua and Fetal Membranes during Human Labor. *Reproductive Sciences* 2008;15(2 suppl.):86A.
 17. Osman I, Young A, Ledingham MA, Thomson AJ, et al. Leukocyte density and pro-inflammatory cytokine expression in human fetal membranes, decidua, cervix and myometrium before and during labour at term. *Mol Hum Reprod* 2003;9(1):41-45.