

Multimed 2019; 23(1)

ENERO-FEBRERO

Revisión bibliográfica

**Implantación embrionaria. Algunos aspectos moleculares en la
receptividad endometrial. Revisión Bibliográfica**

Embryonic implantation. Some molecular aspects in endometrial
receptivity. Bibliographic review

Esp. II Embriol. Rafael Gutiérrez Núñez. ¹*

Est. 2do año Méd. Beatriz María Gutiérrez Alarcón. ¹

¹Universidad de Ciencias Médicas. Manzanillo. Granma, Cuba.

*Autor para la correspondencia. Email: rafagutierrez@infomed.sld.cu

RESUMEN

La implantación embrionaria es un proceso que tiene lugar durante un breve periodo de tiempo donde el tejido endometrial alcanza un estado receptivo y donde se expresan moléculas que son necesarias para el proceso de implantación y posterior invasión del blastocisto. Este periodo se conoce como ventana de implantación y tiene lugar alrededor del día 20-21 del ciclo menstrual. El endometrio receptivo ha sido ampliamente estudiado desde el punto de vista histológico y molecular, y se conocen gran número de marcadores que forman parte de la firma molecular del endometrio receptivo, lo cual ha servido para desarrollar herramientas moleculares genómicas para el diagnóstico de la receptividad endometrial con utilidad clínica. Sin embargo, hasta ahora no se ha tenido en cuenta que la capacidad receptiva del endometrio tiene un componente inmunológico importante que facilita la entrada

del tejido embrionario en el tejido materno. El objetivo de esta revisión es destacar ciertos grupos de biomarcadores identificados con un papel fundamental en el mecanismo de implantación.

Palabras Claves: implantación del embrión; infertilidad; endometrio; biomarcadores.

ABSTRACT

Embryo implantation is a process that takes place during a short period of time where the endometrial tissue reaches a receptive state and where molecules are expressed that are necessary for the implantation process and subsequent invasion of the blastocyst. This period is known as the window of implantation and takes place around day 20-21 of the menstrual cycle. The receptive endometrium has been widely studied from the histological and molecular point of view, and a large number of markers are known that are part of the molecular signature of the receptive endometrium, which has served to develop molecular genomic tools for the diagnosis of endometrial receptivity. with clinical utility. However, until now it has not been taken into account that the receptive capacity of the endometrium has an important immunological component that facilitates the entry of embryonic tissue into the maternal tissue. The objective of this review is to highlight certain groups of biomarkers identified with a fundamental role in the implementation mechanism.

Keywords: embryo implantation; infertility; endometrium; biomarkers.

Recibido: 08/11/2018.

Aprobado: 01/12/2018.

Introducción

La implantación o nidación embrionaria es el factor limitante más importante de la reproducción humana que necesita de un embrión competente y un endometrio receptivo, así como el establecimiento de un proceso denominado “estrecho diálogo:

endometrio-embrión. Requiere de una interacción recíproca entre el blastocisto, que cuenta con su propio programa molecular de crecimiento y diferenciación celular, y el endometrio, órgano dinámico que exhibe un corto período de receptividad llamado “ventana de implantación”. Este proceso está gobernado por factores moduladores endocrinos, paracrinos, y autocrinos, tanto de origen materno como embrionario. ⁽¹⁾

La implantación es el proceso por el que el embrión, en etapa de blastocisto, se introduce en el endometrio. Después de la fecundación, el embrión es transportado a través de las tubas uterinas y llega a la cavidad del útero donde hace contacto con el revestimiento epitelial del endometrio, que expresa integrinas, que favorecen la adhesión del blastocisto a los seis o siete días pos fertilización. Enseguida el producto se introduce en el estroma endometrial y el sitio inicial de penetración es recubierto por epitelio. ⁽²⁾

La reproducción humana está lejos de ser perfectamente eficiente. Sólo 50 a 60% de todas las concepciones avanzan más allá de la semana 20 de gestación. Entre las diferentes causas, la falla en la implantación es la principal, con aproximadamente 75% de las pérdidas del embarazo, por lo que en general llevan un proceso secuencial. ⁽³⁾

Una implantación bien sucedida depende de dos factores importantes: la calidad del embrión y la receptividad del endometrio, ambos responsables por la interacción materno-embionaria necesaria para la adhesión e invasión del blastocisto en el endometrio. ^(4,5)

El comprometimiento de la receptividad uterina es una de las principales razones de fracaso de las técnicas de reproducción asistida, siendo el fenómeno de la implantación considerado el factor más limitante en el establecimiento de un embarazo y, consecuentemente, una causa mayor de infertilidad. ^(3,5)

El valor medio de la tasa de implantación en los ciclos de Fecundación In Vitro, de acuerdo con varios estudios publicados, es cerca de 25% (1,3-7). De la totalidad de los casos de fracaso en la implantación, se estima que cerca de dos tercios serán causados por una receptividad uterina inadecuada, siendo apenas un tercio asociado al embrión,

cuya calidad ha venido ser optimizada por la evolución de las técnicas de reproducción asistida. ^(1,8)

Adicionalmente, los métodos más antiguos de evaluación de la receptividad endometrial, como los histológicos o ecográficos, no trajeron una mejoría significativa en las tasas de embarazos.⁽⁹⁾ Estos hechos han motivado un interés creciente en la investigación de los biomarcadores involucrados en la receptividad endometrial, han sido identificados, hasta la fecha, un gran número de mediadores moleculares, incluyendo moléculas de adhesión, citocinas, mucinas, prostaglandinas, entre otros. ⁽¹⁰⁻¹²⁾

Esta revisión bibliográfica se pretende destacar los conocimientos recientes acerca de algunos de los biomarcadores de receptividad endometrial que se piensa tienen un papel crucial en la interacción materno-embionaria, incluyendo los nuevos objetivos, genómicos, proteómicos, lipidómicos y microRNA que se han revelado promisoros en la comprensión de la complejidad del proceso de implantación y consecuentemente, en la mejoría del diagnóstico y tratamiento de la infertilidad.

Mecanismos de implantación embrionaria

La implantación embrionaria es considerada un proceso progresivo y secuencial cuyo suceso requiere el desarrollo coordinado de un blastocisto competente y de un endometrio receptivo. ^(2,11, 12)

A pesar de los avances significativos en la investigación reproductiva, muchas cuestiones fundamentales sobre la implantación continúan por esclarecerse.⁽³⁾ Mientras, es globalmente aceptado, que el proceso de implantación o nidación puede ser dividido en cuatro fases: pre contacto, aposición, adhesión e invasión.⁽³⁻⁷⁾

1. Fase de pre contacto: el blastocisto previamente a la implantación toma posición dentro de la cavidad uterina sobre el tejido endometrial, permanece inmóvil y se orienta y asume una cierta polaridad, con el polo embrionario hacia el endometrio para permitir más adelante la adecuada formación placentaria.

2. Fase de aposición: ocurre entre el 5º – 8º día del desarrollo embrionario, el blastocisto comienza a situarse y buscar un lugar en el útero donde adherirse e implantarse. El blastocisto orienta su masa celular interna en el polo en el que el trofoectodermo se va a adherir al epitelio endometrial forma inestable, iniciándose el diálogo bioquímico entre el embrión y las células endometriales. El blastocisto entra en contacto con la superficie luminal del endometrio y establece contacto con los pinópodos.⁽¹⁾ En esta fase, la unión entre el endometrio y el embrión es tan íntima que resiste al desprendimiento por el flujo uterino.⁽⁹⁾
3. Fase de adhesión: el blastocisto necesita romper la zona pelúcida para su implantación, cuando esto sucede comienza la adhesión, la cual dura entre unos minutos y unas pocas horas, quedando así el blastocisto adherido al epitelio endometrial. Se cree que sustancias señalizadoras paracrinas locales desencadenan una unión más fuerte, auxiliando en la fijación del blastocisto.
4. Fase de invasión: ocurre en el 8º día y es cuando el blastocisto,⁽⁹⁾ penetra la capa epitelial e invade el estroma, la rotura de la membrana basal del endometrio pone en contacto a las células del trofoblasto con la decidua y del estroma desencadenándose en la madre una respuesta inmunológica, fundamental para la inmunotolerancia, en la cual participan entre otros, el sistema de histocompatibilidad HLA, citocinas producidas por los T Helper, así como las células natural killer uterinas con sus receptores killer-cell-immunoglobulin-like receptors.⁽¹⁾ Para establecer una relación con la vascularización materna y en respuesta a esa invasión, las células del estroma endometrial sufren decidualización.⁽⁹⁾

La nidación en la especie humana parece ser relativamente ineficiente cuando es comparada con la de otras especies animales, por ejemplo, se estima que la tasa de suceso de implantación en humanos es de 30% por ciclo, mucho más baja que la de los babuinos que es cerca de 70%.⁽¹⁵⁾ Muchos estudios han buscado responder si las bajas tasas de implantación estarán relacionadas con el embrión, que en la especie humana

exhibe generalmente alta incidencia de aneuploidias y apoptosis, o si estarán relacionadas con una falla en el desarrollo de una receptividad endometrial adecuada para la implantación embrionaria. Hay evidencias que apoyan la hipótesis de que una receptividad endometrial inadecuada contribuye significativamente para el fracaso de la nidación, ha sido identificado un gran número de mediadores moleculares que, bajo la influencia de hormonas ováricas, parece estar involucradas en la interacción materno-embionaria.⁽¹³⁻¹⁵⁾ Alteraciones morfofuncionales durante este período pueden impedir o dificultar la implantación. Por este motivo, el estudio del endometrio en esta fase es importante para el esclarecimiento de los mecanismos involucrados en la interacción materno-embionaria.^(11, 13,16)

La receptividad endometrial como un factor determinante de la fertilidad

La relativa ineficacia del proceso de implantación es considerada paradójica, ya que la reproducción es crítica para la sobrevivencia de las especies y permanece un problema por resolver en la medicina reproductiva, siendo considerada una causa mayor de infertilidad en mujer saludable.^(17, 18)

En las mujeres con fallas inexplicables en la implantación, a pesar de una buena respuesta hormonal, de embriones con calidad optimizada, con un desarrollo endometrial satisfactorio y sin patologías identificadas, una receptividad endometrial sub-óptima es considerada un factor limitante en la implantación embrionaria.^(1, 13,19)

La receptividad endometrial puede ser definida como la capacidad de la mucosa uterina de facilitar una implantación embrionaria con éxito. El endometrio humano está receptivo a la implantación del blastocisto apenas durante un breve período de tiempo en la fase lútea media del ciclo menstrual, que comienza aproximadamente seis a siete días después de la ovulación y que no dura más que dos a cuatro días.⁽¹³⁾ A este período se le conoce como “ventana de implantación” y corresponde a un período de máxima receptividad uterina para la implantación.^(1, 2, 20)

El endometrio sufre alteraciones morfológicas precisas hasta que se torne receptivo, esas alteraciones ocurren bajo la influencia de hormonas esteroideas ováricas y de sustancias mediadoras paracrinas relacionadas con el embrión.^(8,14) El aumento de los

niveles de estrógeno durante la fase folicular del ciclo menstrual está asociado a la proliferación de las células endometriales. ^(8,14) Después de la oocitación, el aumento de progesterona secretada por el cuerpo lúteo lleva a la diferenciación de las células endometriales, dejando el endometrio maduro y listo para la implantación. ⁽¹²⁻¹⁴⁾ El estrecho período de tiempo que caracteriza la “ventana de implantación” es crucial y parece estar parcialmente bajo influencia de la progesterona. El blastocisto entra a la cavidad uterina, cerca de 4 días después a la oocitación, donde se mueve libremente bajo influencia de la L-selectina.

Para evitar que la adhesión del blastocisto ocurra en un local inadecuado para la implantación, otro mediador -MUC-1-expresado por las células endometriales desempeña un papel importante por su acción repelente, impidiendo que la adhesión ocurra en un local con baja probabilidad de implantación. En determinadas áreas endometriales, ocurre secreción de quimiocinas y citocinas que atraen al blastocisto para el mejor local de implantación y en esta fase, el blastocisto expresa moléculas de adhesión como integrinas y cadherinas para asegurar la adhesión entre el embrión y el endometrio. ⁽¹³⁾ A pesar de que esta secuencia de eventos es presentada de modo simplista, se sabe actualmente que diferentes marcadores de receptividad endometrial son cruciales en determinados momentos. ^(13, 21)

Evaluación clínica de la función endometrial

El suceso de la implantación es el factor determinante en el establecimiento de un embarazo y está íntimamente dependiente de la receptividad endometrial y, como ya fue referido, el comprometimiento de esta receptividad es responsable por cerca de dos tercios de los casos de fracaso de las técnicas de reproducción asistida. Así, la evaluación clínica, de las condiciones del endometrio para recibir un embrión y promover una implantación bien sucedida, asume una importancia extrema en todo el proceso. Idealmente, las técnicas de evaluación de la función endometrial, deberían ser capaces de prever eficazmente la receptividad, ser mínimamente invasivas y de fácil realización en la práctica clínica cotidiana. La determinación del espesor del endometrio y del patrón ecográfico con recurso a la ultrasonografía es el método más utilizado, mientras, han sido desarrollado técnicas de evaluación de otros parámetros

de la función endometrial como la perfusión, la función secretora y el recurso de las biopsias.

✓ ***Análisis ultrasonográfica del endometrio***

La ultrasonografía del endometrio fue una de las primeras técnicas aplicadas en la evaluación de la función endometrial y es tal vez la más utilizada. Tiene la gran ventaja de ser una técnica no invasiva y, además de esto, es fácil de realizar. Mientras, su utilidad como forma de prever el suceso de la implantación y el consecuente embarazo es muy limitada. ^(9, 22, 23)

La determinación del espesor del endometrio es el parámetro más utilizado para la evaluación de la receptividad endometrial, una vez que esta sufre variaciones durante el ciclo menstrual, alcanzando el valor máximo durante la oocitación. Se sugirió que un espesor menor de 6-8 mm sería indicativo de una baja receptividad y, consecuentemente, de una elevada probabilidad de fracaso. Con todo, a pesar de esta constatación, lo opuesto, o sea, un endometrio con un espesor superior a este valor no implica necesariamente una indicación positiva de mayor receptividad y no puede, por eso, ser considerado como indicador de suceso en la implantación. Además de esto, estudios comparativos de ciclos que resultaron en gestaciones y ciclos en que esto no ocurrió, demostraron que el espesor medio del endometrio era muy semejante en ambos casos. Sin embargo, estos hechos no excluyen una relación entre el espesor del endometrio y el embarazo. El reciente análisis de algunos estudios publicados indica que esa relación probablemente existe más, dada la complejidad del proceso de implantación, su determinación y utilización como forma de prever el suceso de la misma no es exequible. Aun así, la monitorización del espesor del endometrio continua a ser útil porque, a pesar de la determinación de un espesor dentro de los parámetros normales no es indicativo de suceso, permite identificar las situaciones en que este está comprometido debido a su reducido o excesivo espesor. ^(9,20)

La monitorización del patrón ecográfico del endometrio es otro de los métodos utilizados para determinar la receptividad y se justifica en las alteraciones de textura que este presenta durante el ciclo. Durante la fase proliferativa el endometrio

presenta tres líneas hiperecogénicas definidas, respectivamente, la cavidad uterina y las dos uniones entre el miometrio y el endometrio. La identificación de esta estructura trilaminar, ha sido descrita por algunos autores, como un buen indicador para el suceso de la implantación, pero, más una vez, hay opiniones contradictorias. Tal como en el caso de la evaluación del espesor, la utilidad de la monitorización de la textura endometrial es limitada por el hecho de la no observación de las líneas hiperecogénicas, las cuales son un gran indicador de fracaso, una vez que su identificación no es suficiente para concluir que la implantación irá ser bien sucedida.

(9,20, 24,25)

La evaluación de la perfusión del endometrio con recurso a doppler también ha intentado determinar la influencia de este factor en el suceso de la implantación y aún que un estudio prospectivo ha dado indicaciones en el sentido de ser un factor indicativo de la receptividad del endometrio. Es una prueba no invasiva, fácil y reproducible, podría predecir la capacidad de implantación y revelar problemas de infertilidad inexplicables. Detecta anomalías a nivel endometrial. Según estudios realizados la tasa de embarazos es inversamente proporcional al IP de las arterias uterinas (AU). Sin embargo, en las publicaciones hasta la fecha sólo se ha demostrado ausencia de embarazo con $IP > 3$. La alta resistencia en las AU al final de la fase folicular predice escasa receptividad endometrial.

La determinación de flujos vasculares en las AU de mujeres estériles comparados con mujeres que han gestado demostró que el déficit vascular uterino es una entidad real. Actualmente se considera que es causa de un 5 a 10% de los casos de esterilidad de origen desconocido y que hasta el 95% de las pacientes sin flujo diastólico en la fase lútea son estériles.^(9,11,13,20,25,26)

✓ **Análisis de la función secretora**

Este método permite evaluar la función secretora del endometrio, teniendo por base el análisis bioquímica serológica o de las secreciones.^(9, 26,27)

El análisis serológico fue evaluado en algunos estudios, que sugerían un potencial utilidad de la medición de valores de determinadas proteínas como método no invasivo de evaluación de la adecuación de la fase lútea. Esa utilidad acabó por venir a

ser puesta en causa más tarde por otros estudios, que concluyeron que este método no es capaz de aportar una indicación fiable sobre la función endometrial. ⁽⁹⁾ El análisis de las secreciones uterinas es otro método no invasivo de evaluar la función secretora y puede ser efectuado recorriendo a varias técnicas, nombradas, “microdiálisis intrauterina”, “flushings uterinos” o aspiración de las secreciones endometriales. La “microdiálisis intrauterina” es un procedimiento que permite analizar las citocinas y los factores de crecimiento endometriales, es un procedimiento muy moroso y, por eso, no tiene utilidad en la práctica clínica. El “flushings uterinos” y la aspiración de las secreciones tiene alguna utilidad, mientras, y tal como muchos otros métodos, su capacidad para prever la receptividad del endometrio es bastante limitada y, por eso, su utilización en la práctica clínica es reducida.^(28,29)

✓ **Análisis de biopsias endometriales**

Este método continúa a ser el más utilizado en la evaluación endometrial pero presenta algunas limitaciones. Por ser una técnica invasiva, la obtención de muestras no debe ser realizada durante el ciclo en el que se pretende efectuar transferencia, pero sí en los ciclos previos y, este hecho torna la técnica muy dependiente de la reproductibilidad de los ciclos menstruales de la paciente.

Además, está descrito una gran variabilidad intra-observador. Estas limitaciones disminuyen mucho la capacidad predictiva de este método llevando algunos autores a sugerir una reevaluación de su utilidad. ¹⁴

Ninguno de los métodos disponibles permite prever con elevada fiabilidad el suceso del proceso de implantación por lo que es necesario efectuar nuevos estudios para desarrollar y validar marcadores fidedignos que puedan ser utilizados en la práctica clínica. ⁽¹⁵⁾

Biomarcadores de la receptividad endometrial

Son aquellos parámetros que nos permiten identificar un endometrio como receptivo, son de varios tipos: morfológicos, moleculares, “-ómicos”. ⁽¹²⁾

Marcadores morfológicos anatómicos

Consisten en los cambios histológicos que se producen diariamente en el endometrio durante la fase lútea y que pueden ser evidenciables con microscopía óptica. La forma

de estudiar estos cambios está basada fundamentalmente en los criterios de Noyes que atienden a los siguientes aspectos del endometrio:

1. Grado de mitosis glandular.
2. Pseudoestratificación de los núcleos.
3. Vacuolas basales.
4. Secreción.
5. Edema del estroma.
6. Reacción pseudodecidual .
7. Mitosis del estroma.
8. Infiltración leucocitaria.

Marcadores anatómicos ecográficos

Identifican ecográficamente los cambios del endometrio.

Desgraciadamente, a pesar de la ventaja de ser muy poco invasivos, no han demostrado tampoco ser muy consistentes para determinar la receptividad endometrial. Podrían ser más interesante en el futuro con el uso de la tecnología 3D/4D.

Marcadores moleculares

Se han realizado múltiples estudios identificando diversas moléculas que intervienen en la implantación embrionaria. Entre ellas cabe destacar:

1. Integrinas.
2. MUC 1.
3. COX-2.
4. HOXA10.
5. LIF.
6. Calcitonina.

Incluso se han desarrollado algunos test moleculares para la detección de una de ellas o de un grupo de ellas. Entre ellos destaca el E-tegrity test, que detecta anticuerpos frente a la integrina $\beta 3$ o el EFT Quick, que detecta la expresión de ciclinas y de la proteína p27. Sin embargo, ninguno de ellos ha conseguido mejores resultados que una simple histología.

Marcadores “-ómicos”

Consiste en llevar a cabo un análisis masivo de datos. Se pasa del análisis molécula a molécula a estudiar todo el conjunto en un solo experimento. Existen diversos tipos de marcadores pero cabe destacar los siguientes:

1. Genómica: estudia el conjunto y ordenación de los genes en el genoma y sus variantes.
2. Transcriptómica: estudia la expresión de los genes a nivel del tejido estudiado a partir del ARNm.
3. Proteómica: estudia la colección de proteínas y sus proporciones.
4. Metabolómica: estudia todos aquellos metabolitos que no sean genes, ARNm o proteína.

Una característica fundamental de estos marcadores es que para la interpretación de los resultados que ofrecen es necesaria una herramienta llamada bioinformática. ⁽¹²⁾

Mientras, la determinación de la receptividad del endometrio se ha revelado más difícil de evaluar, relativamente al embrión, ya que su investigación depende fundamentalmente de la experimentación animal, cuyos resultados, ni siempre son transpuestos para la especie humana. ^(13,18) Aun así, muchos de los avances en la investigación apoyarían la existencia de biomarcadores que ayudan a comprender mejor la relación temporal y espacial durante la implantación embrionaria.

Marcadores morfológicos de receptividad endometrial, Noyes et al. (1950), a través del análisis de las características histológicas de biopsias endometriales realizadas durante

ciclos espontáneos, instituyeron los criterios histológicos de marcación endometrial, que fueron aceptados como patrón en la evaluación de la receptividad endometrial. ⁽¹³⁾ Aunque estos criterios clásicos aún sean utilizados para el análisis cronológico de las alteraciones endometriales, han sido identificadas deficiencias. La fecha es más específica en la fase lútea inicial y en la tardía, no así en el período de “ventana de implantación”, con demostración de pocos parámetros histológicos y gran variabilidad intra e inter-observadores, principalmente en las mujeres infértiles en esa fase del ciclo. ⁽²⁹⁾ La microscopia electrónica permitió la evaluación de proyecciones de la membrana de las células epiteliales endometriales denominadas “pinópodos”, cuyo apareamiento coincide con el inicio de la fase receptiva del endometrio, ⁽¹¹⁾ y que es un fenómeno regulado por el factor de transcripción HOXA-10, además de que depende de varios factores como el aumento de los niveles plasmáticos de progesterona, el aumento de la expresión del factor inhibidor de la leucemia (LIF) y su receptor y de la integrina $\alpha V\beta 3$.⁽¹⁾ Durante algún tiempo se pensó que tendrían un papel importante en la receptividad endometrial ya que, estudios in vitro, demostraron que la adhesión del blastocisto ocurría preferencialmente en las células endometriales que exhibían pinópodos.^(11,15,27) Mientras, estudios más recientes demostraron que estas estructuras están presentes durante la totalidad de la fase lútea y que, por eso, su papel como biomarcadores de la receptividad endometrial es considerado controvertido. ^(18,31)

Marcadores moleculares de receptividad endometrial

Moléculas de Adhesión Celular (CAM)

La familia de moléculas de adhesión celular es compuesta por cuatro miembros: las integrinas, las cadherinas, las selectinas y las inmunoglobulinas. ⁽¹⁶⁾

Las integrinas son glicoproteínas transmembranales, cuya expresión en el endometrio fue descrita por primera vez en 1992 e, a partir de ahí, han sido intensamente estudiadas. ^(19,26) Son formadas por la asociación de dos sub unidades α y β a través de una unión no covalente. ^(11,15) Las integrinas participan en la adhesión célula-matriz extracelular y adhesión célula -célula en muchos procesos fisiológicos, incluyendo el

desarrollo embrionario, homeostasia, trombosis, cicatrización de heridas, mecanismos de defensas inmunes y no inmunes e transformación oncogénica. ⁽¹³⁾

Una gran variedad de integrinas han sido identificadas en el epitelio endometrial glandular e luminal, la mayoría de ellas son expresadas durante la totalidad del ciclo menstrual, mientras, otras presentan un patrón de expresión limitado en el ciclo. Fue descrito un aumento en el endometrio de las integrinas $\alpha1\beta1$, $\alpha4\beta1$ y $\alpha V\beta3$ en la fase lútea media (20^o-24^o día del ciclo menstrual), siendo que, apenas la subunidad $\beta3$ mostró un aumento en su expresión después del 19^o día y no antes. ^(13,19) Además de eso, la integrina $\alpha V\beta3$ fue detectada por estudios inmunohistoquímicos en la superficie epitelial del endometrio luminal que reacciona primeramente con el trofoblasto, y ha sido propuesta como un potencial receptor de la adhesión embrionaria. El patrón de expresión de las integrinas durante el ciclo es sugestivo de una regulación hormonal en la que altos niveles de estrógenos durante la fase proliferativa inhiben la expresión de las integrinas, mientras el aumento de progesterona en la fase lútea aumenta su expresión. ^(13,17) La expresión anormal de la integrina $\alpha V\beta3$ ha sido asociada a situaciones de infertilidad inexplicable, endometriosis, deficiencia de la fase lútea y, más recientemente, el síndrome del ovario poliquístico; ^(13,16) esta integrina junto con la cadherina E, juega un papel importante en la fase de adhesión, para que el blastocisto pueda adherirse firmemente a la superficie del epitelio endometrial. ⁽¹⁾ Estudios demuestran que los niveles de integrina $\alpha V\beta3$ en el 21^o día del ciclo pueden predecir la tasa de suceso de la FIV ya que, niveles normales están asociados al aumento de la tasa de embarazo, cuando son comparados con bajos niveles. Considerando la literatura, la integrina $\alpha V\beta3$ representa un biomarcador promisor en el proceso de implantación humana. ^(13,16,25)

Las cadherinas constituyen un grupo de glicoproteínas responsables por el mecanismo de adhesión célula-a-célula calcio-dependiente. Están divididas en sub clases: E, P e N-cadherinas, distintas en su especificidad inmunológica e distribución de tejidos. En relación a la implantación, la sub unidad E-cadherina es la más estudiada; localizada en la membrana celular plasmática, es importante para la adhesión entre las células epiteliales. ^(14,17) Estudios sobre la implantación embrionaria en ratas han mostrado

que mutaciones genéticas de la E-cadherina originan defectos en la pre-implantación. ⁽¹³⁾ El papel de esta proteína en la implantación humana no es bien conocido, y todos sus niveles se han mostrado aumentados en la fase lútea, sin embargo no se han evidenciado variaciones en el ciclo menstrual por estudios inmunohistoquímicos. Estudios *in vitro* mostraron un aumento transitorio del calcio intracelular desencadenado por la calcitonina, suprimiendo la expresión de la E-cadherina en los locales de contacto celular. La progesterona induce la expresión de la calcitonina en el epitelio endometrial en la fase secretora media del ciclo menstrual, probablemente regulando la expresión de la E-cadherina. Es posible que a E-cadherina tenga una doble función: en la fase inicial, es necesaria para la adhesión celular y, en el momento de la implantación, disminuye para posibilitar la invasión del blastocisto. ^(14,19)

Las selectinas son glicoproteínas e incluyen la P-selectina, L-selectina y E-selectina. El sistema de adhesión de las selectinas está bien establecido en la interface materno-fetal. La L-selectina ha sido encontrada en el lado del embrión y, en el lado materno, la expresión de los ligandos de la selectina, como MECA-79 o HECA-452, está aumentada durante la "ventana de implantación". ⁽¹⁴⁾ Adicionalmente, la inmunorreactividad del ligando de la L-selectina MECA-79 parece ser más fuerte en el epitelio endometrial luminal que en el epitelio glandular. ⁽²⁸⁾ La importancia fisiológica de la interacción entre la L-selectina y sus ligandos oligosacáridos fue investigada en el endometrio y en las células trofoblásticas, sugiriendo que este proceso pueda constituir el paso inicial de la implantación del blastocisto. Mientras, a pesar de los avances en la investigación, poco se sabe sobre el papel de las selectinas en la implantación embrionaria, sugiriendo que su participación ocurra en los estadios iniciales, señalizando el mejor local de la implantación del blastocisto en la pared uterina. ⁽¹³⁾

Entre los componentes de la familia CAM, las inmunoglobulinas son las más extensas. La ICAM-1 o CD54 es una glicoproteína transmembranal que pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas y es expresada en la superficie de varios tipos celulares, como los fibroblastos, leucocitos, células endoteliales y epiteliales. Esta molécula es regulada por las citocinas inflamatorias y no inflamatorias. La interacción de la ICAM-1 es esencial para la migración transendotelial de leucocitos y para varias

funciones inmunológicas. ⁽²²⁾ Está establecido que el endometrio, bajo condiciones normales, contienen una larga población de leucocitos, incluyendo macrófagos, linfocitos T y granulocitos, que tienen importancia en muchos mecanismos fisiológicos como la deciduización, menstruación, ⁽²³⁾ y el parto, ⁽²⁹⁾ y que esta población de leucocitos expresa ICAM-1 en el endometrio. Adicionalmente fue demostrado que, tanto en las células epiteliales como en el estroma, hay una fuerte expresión de la ICAM-1, sugiriendo que esta proteína pueda tener un papel en la fisiopatología del endometrio. ⁽²⁵⁾ Aunque aún no se haya demostrado que la ICAM-1 sea indispensable en los estadios iniciales de la interacción del blastocisto con el endometrio, se sospecha que pueda participar indirectamente en este proceso por interactuar con el sistema inmune. ⁽²⁷⁾

Mucinas

Las mucinas son glicoproteínas de alto peso molecular que pueden ser encontradas en una gran variedad de tejidos, incluyendo las células epiteliales endometriales. ^(7,11) En el endometrio humano, a penas la MUC1 y, en menor extensión, la MUC6 han sido encontradas. ⁽¹³⁾ La superficie apical de la mayoría de las células epiteliales se encuentra revestida por un espeso glicocálce, compuesto esencialmente por mucinas, que protegen la superficie celular de procesos patológicos. ^(7,11) En el endometrio, la MUC1 se extiende más allá del glicocálce y es, probablemente, la primera molécula que el blastocisto encuentra en su trayecto. ^(7,13) Se piensa que la MUC-1 ejerza una acción repelente sobre el blastocisto hasta que el encuentra el local adecuado para la implantación. ^(11,13) La distribución y regulación de la MUC-1 varían a lo largo del ciclo menstrual y entre las especies. En algunas especies animales, como en ratas e cerdos, el aumento de los niveles de progesterona en la fase lútea está asociado a una disminución de la expresión de la MUC-1, facilitando la interacción entre el embrión y el endometrio. Sorprendentemente, en la especie humana, se descubrió que hay un aumento de MUC-1 en el período de pre implantación, sugiriendo que tiene un papel crucial en direccionar el embrión temporal y espacialmente para el local adecuado y que es necesario un mecanismo local de remoción de la barrera de MUC-1 para ocurrir la implantación. ⁽⁷⁾ Fue también demostrado en estudios in vitro que, la superficie de

los pinópodos uterinos donde ocurre la implantación embrionaria, no hay expresión de MUC-1, manteniéndose la restante barrera inalterada durante una larga extensión a partir del local de implantación, sugiriendo que factores expresos a la superficie del blastocisto o secretados por él, desencadenan la pérdida local de MUC-1. ⁽¹¹⁾

Citocinas

Las citocinas constituyen un grupo de proteínas que regulan una gran variedad de funciones celulares, con la proliferación celular e su diferenciación. Además de tener un papel importante en la reparación del endometrio relacionada con los ciclos menstruales, también están implicadas en el proceso reproductivo, la oocitación y la implantación. ^(12,13)

LIF (Factor Inhibidor de Leucemia)

Se trata de una glicoproteína que pertenece a la familia de las IL-6, que también incluye la OSM, el CNTF y la CT-1 (12,13). El LIF actúa en diferentes células y tejidos a través de la unión a su receptor de membrana LIF-R, y a una segunda molécula transmembranal, la gp130. Se encuentra en el epitelio luminal y glandular y en las células del estroma. La expresión del mRNA del LIF ha sido demostrada en biopsias endometriales de mujeres fértiles, durante el 18º e 28º día del ciclo menstrual, con un pico al 20º día. ^(1, 2, 13,15) Fue también demostrado que la concentración de LIF en lavados uterinos es máxima durante esa fase. ^(13,15) La asociación de infertilidad con algunos genotipos en los cuales hay menor producción o baja actividad de LIF también refuerzan su papel en la implantación. ⁽¹³⁾ La importancia del LIF en la implantación embrionaria humana ha sido también establecida con base en niveles anormales de LIF en mujeres infértiles. Ha sido demostrado que en mujeres con infertilidad inexplicable, la secreción de LIF apenas aumenta ligeramente de la fase proliferativa para la fase secretora. ^(12,14)

Otros posibles biomarcadores de receptividad endometrial.

Calcitonina

La calcitonina es una hormona secretada por las células parafoliculares de la tiroide, importante para la homeostasia del calcio y que se encuentra presente en varios tejidos, como hígado, pulmones, intestino, sistema nervioso central y útero. ⁽¹²⁾

Estudios demostraron que la expresión de mRNA calcitonina aumenta durante la fase secretora media del ciclo menstrual, con máxima expresión entre los días 19 y 21, coincidiendo con la ventana de implantación.

Adicionalmente fue demostrado que la expresión del gen de la calcitonina en el endometrio humano es inducida por la progesterona y que no fue detectada inmunorreactividad para el mRNA calcitonina durante la fase proliferativa y ovulatoria, sugiriendo que la síntesis de esta hormona está aumentada apenas durante el período de implantación. ^(11,12) Fue también realizado un estudio en ratas que consistió en la administración de un antagonista de la síntesis de mRNA calcitonina, donde fue observado un decrecimiento de 50-80% de la tasa de implantación.

Por tanto, hay evidencias de que la calcitonina pueda ser uno de los marcadores de la receptividad uterina, aunque el mecanismo por el cual ella promueve las interacciones materno-embriónicas todavía no es totalmente conocido. ^(11,12)

Marcadores “-ómicos”

Transcriptómica

Se utilizan bioarrays para identificar biomarcadores asociados con procesos biológicos o enfermedades. Para poder conseguir determinar las características que debe tener un endometrio receptivo se han ido haciendo estudios paulatinos. En primer lugar se estudian los perfiles genómicos en distintas fases del ciclo menstrual. Después se comparan los perfiles genómicos de pacientes fértiles y de pacientes con fallos de implantación. En tercer lugar se comparan perfiles de pacientes fértiles y de pacientes con patologías como el cáncer endometrial o la endometriosis. Finalmente se comparan perfiles de pacientes con estimulación ovárica y con terapia hormonal sustitutiva.

Con toda esta información se han desarrollado test clínicos que informan del estado de receptividad endometrial. El más conocido de ellos es el test ERA. Este test es un microarray que identifica el fenotipo receptivo de biopsias endometriales tomadas 7 días después del pico de LH en ciclo natural o 5 días después de la introducción de progesterona en THS. Con él se puede obtener información de la expresión de 238 genes.

La efectividad del test ERA consistiría, de confirmarse sus resultados, en la posible identificación del momento preciso en que tiene lugar la ventana de implantación en cada paciente. En los primeros estudios identifica un 12 % de pacientes como no receptivas. En estos casos informa si el estado de la paciente es prerreceptivo o postreceptivo, adelantando o retrasando el momento de la transferencia. Estiman sus creadores que tienen una sensibilidad de 0,8857 y una especificidad de 0,99758 y, lo que es más importante, es reproducible hasta 40 meses después. ⁽¹²⁾

Secretómica

Identifica factores que son liberados por las células o tejidos en un momento determinado. El líquido de la cavidad endometrial contiene proteínas, lípidos, aminoácidos, electrolitos, factores de crecimiento, etc., que en animales han demostrado ser fundamentales para la implantación. Su detección podría permitir identificar un endometrio como receptivo. La mayor ventaja de estos test sería que se puede obtener la muestra a estudiar sin hacer biopsia, por lo que se puede hacer en el ciclo de tratamiento. La desventaja sería que a veces podría ser difícil conseguir suficiente material.

Lipidómica.

Se ha visto en varios estudios que diversas prostaglandinas juegan un papel importante en la implantación embrionaria. Su estudio en el líquido endometrial podría ser un biomarcador interesante de implantación endometrial. ⁽¹²⁾

Conclusiones

Debido a que la implantación no es un proceso unilateral, en el endometrio es necesario y debe poseer ciertas características, como encontrarse en la fase proliferativa del ciclo menstrual. Debido a esto, el factor materno con la expresión génica endometrial y los cambios morfológicos y biológicos que se efectúan desde la estimulación hormonal influyen alterando la expresión de genes y los marcadores de

las moléculas secretadas de la receptividad endometrial, así, el factor materno es el aporte decisivo para que pueda ocurrir la implantación embrionaria.

Los pinópodos -proyecciones ectoplasmáticas a la superficie de las células epiteliales endometriales- llegaron a ser considerados buenos marcadores morfológicos de la receptividad endometrial. Además, fue demostrado que permanecen presentes más allá del período receptivo no debiendo, por eso, ser usados como marcadores.

La evolución de las tecnologías “ómicas” ha abierto camino para la identificación de potenciales marcadores de receptividad endometrial, a pesar de su validación continua siendo una preocupación relevante.

Puede concluirse que la implantación embrionaria humana es aún un proceso con muchos factores e interacciones desconocidas y que la investigación futura debe insistir en su esclarecimiento y en la integración de datos de estudios genómicos, proteómicos, lipidómicos para la determinación de biomarcadores con significado clínico.

Referencias Bibliográficas

1. Devesa Rodríguez de la Rúa M. Factores asociados a la falla de la implantación: factor embrionario en edad materna avanzada. [Tesis Doctoral]. Barcelona: Universidad autónoma de Barcelona; 2015. Disponible en: <https://www.tdx.cat/handle/10803/384479>
2. Obiala ER. Falla de implantación: madre o embrión. Reproducción 2018 enero; 9(1): 5-16.
3. Hernández-Valencia M, Valencia-Ortega J, Ríos-Castillo B, Cruz-Cruz PR, Vélez-Sánchez D. Elementos de la implantación y placentación, aspectos clínicos y moleculares. Reproducción 2014; 7: 102-116.
4. Fatemi HM, Popovic Todorovic B. Implantation in assisted reproduction: a look at endometrial receptivity. Reproductive BioMedicine Online 2013; 27(5): 530-538.
5. Makrigiannakis A, Minas V. Mechanisms of implantation. Reproductive BioMedicine Online 2007; 14(1): 102-109.

6. Minas V, Loutradis D, Makrigiannakis A. Factors controlling blastocyst implantation. *Reproductive BioMedicine Online* 2005; 10(2): 205-216.
7. Emiliani S, Delbaere A, Devreker F, Englert Y. Embryo-Maternal interactive factors regulating the implantation process: implications in assisted reproductive treatment. *Reproductive BioMedicine Online* 2005; 10(4): 527-540.
8. Guzeloglu-Kayisli O, Basar M, Arici A. Basic aspects of implantation. *Reproductive BioMedicine Online* 2007; 15(6): 728-739.
9. García Martín S, Horcajadas Almansa JA. Desarrollo de una nueva herramienta diagnóstica para redefinir la firma molecular de la receptividad endometrial. *Biosaia* [Internet] 2014 [citado 22 de julio del 2018]; (3). Disponible en: <https://www.upo.es/revistas/index.php/biosaia/article/view/912>
10. Andreatta E, Elena AC, Distilo CR, Landi G, Machado CE, Pené AI, Pirrotta NA. Receptividad endometrial: La ecografía Doppler y la aplicación de sildenafil ofrecen mejores resultados en pacientes con fracasos en los tratamientos de fertilización in vitro. *Resultados preliminares. Reproducción* 2015; (30): 63-71.
11. García Enguádanos A. Utilidad de los biomarcadores de receptividad endometrial. II Jornada de Actualización Científica. Transferencia Embrionaria. Disponible en: <https://docplayer.es/43269518-Utilidad-de-los-biomarcadores-de-receptividad-endometrial.html>
12. Pellicer A, Dominguez F, Remohi J, Simón C. Molecular basis of implantation. *Reproductive BioMedicine Online* 2002; 5(Suppl 1): 44-51.
13. Hoozemans D, Schats R, Lambalk C, Homburg R, Hompes PG. Human embryo implantation: current knowledge and clinical implications in assisted reproductive technology. *Reproductive BioMedicine Online* 2004; 9(6): 692-715.
14. Strowitzki T, Germeyer A, Popovici R, Wolff M. The human endometrium as a fertility-determining factor. *Human Reprod Update* 2006; 12(5): 617-630.
15. Diedrich K, Fauser B, Devroey P, Griesinger G. The role of the endometrium and embryo in human implantation. *Human Reprod Update* 2007; 13(4): 365-377.
16. Cavagna M, Mantese J. Biomarkers of endometrial receptivity –A review. *Placenta* 2003; 24(Suppl B): S39-S47.

17. Rashid N, Lalitkumar S, Lalitkumar P, Gemzell- Danielsson K. Endometrial receptivity and human embryo implantation. *Am J Reprod Immunol* 2011; 66(suppl. 1): 23-30.
18. Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Human Reprod Update* 2016; 12(6): 731-746.
19. Young S. Oestrogen and progesterone action on endometrium: a translational approach to understanding endometrial receptivity. *Reproductive BioMedicine Online* 2013; 27(5): 497-505.
20. Sharkey A, Smith S. The endometrium as a cause of implantation failure. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* 2003; 17(2): 289-307.
21. Koot Y, Teklenburg G, Salker M, Brosens J, Macklon N. Molecular aspects of implantation failure. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1822(12): 1943-1950.
22. Lindhard A, Betin-Ley U, Ravn V, Islin Hk, Hviid T, Rex S, Bangsboll S, Sorensen S. Biochemical evaluation of endometrial function at the time of implantation. *Fertil Steril* 2002; 78(2): 221-233.
23. Quinn C, Casper R. Pinopodes: a questionable role in endometrial receptivity. *Human Reprod Update* 2009; 15(2): 229-236.
24. Lessey BA. Endometrial receptivity and the window of implantation. *Baillieres Best Prac Rest Clin Obst Gynaecol* 2000; 14(5): 775-788.
25. Von Grothusen C, Lalitkumar S, Boggavarapu N, Gemzell-Danielsson K, Lalitkumar P. Recent Advances in Understanding Endometrial Receptivity: Molecular Basis and Clinical Applications. *Am J Reprod Immunol* 2014; 72(2): 148-157.
26. Edgell T, Rombauts L, Salamonsen L. Assessing receptivity in the endometrium: the need for a rapid, non-invasive test. *Reprod BioMed Online* 2013; 27(5): 486-496.
27. Garrido-Gomez T, Ruiz-Alonso M, Blesa D, Diaz-Gimeno P; Villela F, Simon C. Profiling the gene signature of endometrial receptivity: clinical results. *Fertil Steril* 2013; 99(4): 1078-1085.
28. Horcajadas J, Riesewijk A, Martín J, Cervero A, Mosselman S, Pellicer A, Simón C. Global gene expression profiling of human endometrial receptivity. *J Reprod Immunol* 2004; 63(1): 41-49.

29. Diaz-Gimeno P, Horcajadas J, Martínez-Conejero J, Esteban F, Alamá P, Pellicer A, Simón C. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature. *Fertil Steril* 2011; 95(1): 50-60.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no declaran conflictos de intereses.