



## II Jornadas SAB-SAMeR-SAEC

Sociedad Argentina de Biología – Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva – Sociedad Argentina de Embriología Clínica

### Organizan y coordinan:

Dra. Fernanda Parborell (SAB), Lic. Iván Anduaga Marchetti (SAMeR),  
Lic Fernanda Urquiza (SAEC).

Reproducción 2018;33(4):41-43

El jueves 16 de agosto de 2018 se realizó las II Jornadas SAB-SAMeR-SAEC; dicha reunión se llevó a cabo en el Americas Towers hotel, Libertad 1070. El tema abordado fue “Interacción materno fetal y sus complicaciones asociadas”.

### Inmunorregulación del proceso de decidualización

Rosanna Ramhorst

Lab. Inmunofarmacología IQUIBICEN (CONICET-UBA) Pabellón II, Ciudad Universitaria. Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

Desde el punto de vista inmunológico, la implantación embrionaria se caracteriza por una respuesta inflamatoria que más tarde será controlada hacia una de tipo tolerogénica a través de la contribución de distintas poblaciones leucocitarias y de mediadores con efectos inmunomoduladores.

Sobre la base de que la respuesta proinflamatoria inicial que caracteriza a la implantación embrionaria es fisiológica y estéril, nos enfocamos en

cómo podría originarse durante el programa de decidualización. Durante este proceso, las células del estroma endometrial sufren cambios fenotípicos y funcionales ampliamente estudiados. Más recientemente se evidenció que las células decidualizadas, como parte de su diferenciación, sufren estrés reticular (ER) y la respuesta de proteína mal plegadas (del inglés UPR), que les permite la expansión de su retículo endoplásmico y el cambio en su secretoma.

Utilizando como modelo la línea de células estromales endometriales humanas (HESC) tratadas con medroxiprogesterona (MPA) y dibutiril-AMPc evidenciamos un aumento en la expresión de los sensores de ER y de los marcadores UPR en comparación con las células no decidualizadas. Sin embargo, lo más interesante fue que el ER genera la activación del inflammasoma, un complejo multicatalítico responsable de la activación de la IL-1 $\beta$ , asociada con los efectos proimplantatorios. Más aún, la prevención del ER/UPR por tratamiento farmacológico de las células decidualizadas con STF-083010 disminuyó el índice de invasión de blastocistos evaluado en un modelo *in vitro* de implantación embrionaria.

Al confirmar estos resultados en biopsias endometriales evidenciamos alteraciones de estas vías tanto en pacientes con abortos espontáneos recurrentes, así como en pacientes con fallas reiteradas en las fertilizaciones *in vitro* (FRI). Mientras que en el primer grupo de pacientes evidenciamos una expresión aumentada de marcadores de ER/UPR en comparación con mujeres fértiles; las pacientes con FRI mostraron menor expresión, sugiriendo que los tenores RS / UPR podrían condicionar la receptividad endometrial.

Sobre la base de que la respuesta proinflamatoria inicial es controlada hacia una de tipo tolerogénica, y que el péptido intestinal vasoactivo (VIP) muestra efectos antiinflamatorios y tolerogénicos en varios modelos *in vivo* e *in vitro*, analizamos el papel de este neuropéptido como un regulador fisiológico del proceso de decidualización. Así pudimos observar que las células HESC decidualizadas con VIP aumentaban los marcadores característicos de diferenciación (IGFBP1, PRL, KLF13 / KLF9 ratio, CXCL12, CXCL8 y CCL2). Para investigar la contribución de VIP al programa de decidualización desde el punto de vista funcional, utilizamos un modelo de implantación *in vitro* basado en el cocultivo de esferoides similares a blastocistos (ESB) obtenidos a partir de células de trofoblásticas (línea celular Swan71), las cuales se transfieren sobre monocapas de células HESC tratadas con VIP o MPA+dbAMPc (Ctrol+). Las células decidualizadas con VIP permitieron la invasión de ESB como el control positivo, confirmando los efectos de VIP en la decidualización.

Luego nos enfocamos en aquellas subpoblaciones que participan en una red para el mantenimiento de un microambiente supresor / tolerogénico. Así evidenciamos que las células decidualizadas con VIP condicionaron a las células dendríticas a un perfil tolerogénico así como también el reclutamiento de linfocitos T. Particularmente restringieron el reclutamiento de linfocitos T CD4<sup>+</sup> efector, potencialmente dañinos, mientras aumentaron el reclutamiento de células T reguladoras, confirmando la contribución de VIP en la generación de un microambiente local supresor.

Finalmente, con el objeto de simular aún más los eventos fisiológicos, evaluamos el efecto de los

medios condicionados de blastocistos humanos (MCB) clasificados de acuerdo con su calidad, según los criterios de Gardner en blastocistos con desarrollo competente o de alta calidad (AC) o con desarrollo detenido o de baja calidad (BC). Observamos que los MCB de BC disminuyeron el reclutamiento específico de linfocitos T regulatorios hacia las células HESC decidualizadas, lo que sugiere que las células decidualizadas tienen la capacidad de sensar la calidad embrionaria y responder diferencialmente a estos mismos.

En líneas generales podemos concluir que el programa de decidualización se asocia a la generación de ER y la UPR, que a su vez llevarán a la generación de una respuesta inflamatoria y cambios en su secretoma. En consecuencia, se induce la producción de VIP que no solamente es capaz de inducir el programa de decidualización, sino también de controlar el microentorno inmune asociado a una respuesta tolerogénica.

## El sistema endocannabinoide: un nuevo participante en la fisiopatología placentaria

Mariana Farina

Laboratorio de Fisiopatología Placentaria. Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFyBO-UBA-CONICET). Buenos Aires, Argentina.

El consumo de drogas en mujeres embarazadas se encuentra entre 10 y 30%, con el agravante que uno de los principales efectos son los problemas a nivel reproductivo. El THC, principal psicoactivo de la marihuana, ejerce su acción uniéndose a receptores de cannabinoides (CBs) y puede provocar abortos recurrentes y pérdida de la preñez.

El sistema endocannabinoide (SEC) es un sistema de comunicación intracelular compuesto por receptores de cannabinoides (CBs), ligandos endógenos derivados de ácidos grasos denominados endocannabinoides (EC), y las enzimas que participan en la síntesis y degradación de dichos ECs. Numerosos trabajos han involucrado a diversos

ECs como moduladores de procesos fisiológicos relevantes como la fertilización, el transporte oviductal, la implantación del embrión y el desarrollo de la placenta, sugiriendo que estos mediadores lipídicos serían moléculas claves en la regulación de múltiples funciones reproductivas.<sup>1,2</sup>

Los principales ECs son la N-araquidoniletanolamina (anandamida, AEA) y el 2-araquidonilglicerol (2-AG). Hacia el final del tercer trimestre del embarazo se detecta un significativo incremento en los niveles plasmáticos de AEA, así como una importante producción de este EC por la placenta.

La placenta es un órgano heterogéneo que forma un vínculo físico y funcional entre la madre y el embrión en desarrollo. Transporta nutrientes, lípidos y agua, y expresa diversas sustancias que participan activamente en el desarrollo y el metabolismo materno y fetal. En las etapas iniciales de formación de la placenta humana, el trofoblasto se expande y se diferencia en dos linajes: el citotrofoblasto (CT) extraveloso, que invade los tejidos y los vasos maternos; y el sincitiotrofoblasto (ST) de las vellosidades, epitelio de transporte responsable del intercambio de nutrientes, gases y productos de desecho entre la madre y el embrión en desarrollo. Un defecto del trofoblasto para invadir las arterias espiraladas provoca que las células permanezcan en un ambiente relativamente hipóxico, hecho que se asocia con la aparición de patologías como la restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) y la preeclampsia (PE).

La PE es un síndrome exclusivo de la gestación humana, cuya incidencia es causante de una elevada morbi-mortalidad materna y fetal a nivel mundial. En nuestro laboratorio hemos demostrado que el SEC se encuentra desregulado en placentas preeclámpticas.<sup>3</sup> Aunque la etiología de esta patología se desconoce, diversos grupos de investigación han consensuado que una anormal invasión del trofoblasto con escasa remodelación de las arterias espiraladas provoca una reducción del flujo arterial útero-placentario, generando hipoxia intermitente y reoxigenación, fenómenos que conducen a una disfunción placentaria.

En el trofoblasto, el sensor molecular que detecta y responde a los cambios en los niveles de oxígeno intracelular, es una proteína heterodimérica denominada HIF (factor inducible por hipoxia). Dado que HIF-1 es un factor de transcripción que modula la expresión de numerosos genes, en nuestro laboratorio evaluamos el rol de este factor de transcripción como regulador del SEC. Para ello utilizamos un modelo de cultivo de explantos sometidos a hipoxia utilizando cloruro de cobalto (CoCl<sub>2</sub>), un agente químico que estabiliza el factor de transcripción HIF-1, permitiéndonos estudiar específicamente el efecto de esta proteína.

La apoptosis es un proceso fisiológico de muerte celular por el cual se eliminan las células sin generar una respuesta inflamatoria. Este proceso aumenta progresivamente con el avance de la gestación, jugando un papel importante en la homeostasis celular y la remodelación tisular placentaria, ya que participa en la diferenciación, sinialización y degeneración del sincitiotrofoblasto. Se ha detectado un incremento significativo de la apoptosis en placentas de mujeres con preeclampsia y diversos trabajos han demostrado que la hipoxia puede inducir apoptosis en una gran variedad de sistemas celulares mediante distintos mecanismos. Por ello, en nuestro laboratorio investigamos el efecto de la estabilización de HIF-1 sobre la apoptosis y la sinialización placentaria, determinando la participación del SEC como modulador de dichos procesos.

### Referencias

1. Correa F, Wolfson ML, Valchi P, Aisemberg J, Franchi AM. Endocannabinoid system and pregnancy. *Reproduction*. Dec 2016; 152 (6): R191-R200.
2. Costa MA. The endocannabinoid system: A novel player in human placentation. *Reprod Toxicol*. Jun 2016; 61: 58-67.
3. Abán C, Leguizamón GF, Cella M, Damiano A, Franchi AM, Farina MG. Differential expression of endocannabinoid system in normal and preeclamptic placentas: effects on nitric oxide synthesis. *Placenta*. Jan 2013; 34 (1): 67-74.