

Estructura y función de la matriz extracelular de las membranas fetales humanas

Drs. Eduardo Reyna-Villasmil, Marielys Torres-Montilla, Lic. Nadia Reyna-Villasmil, Lic. Jorly Mejias-Montilla

Servicio de Obstetricia y Ginecología - Maternidad "Dr. Nerio Beloso" Hospital Central "Dr. Urquinaona". Maracaibo, Estado Zulia

INTRODUCCIÓN

Todos los vertebrados, desde los ovíparos hasta los vivíparos, tienen tejidos extraembriónicos accesorios los cuales contienen al feto, conocidos como membranas fetales. Estos tejidos comprenden tres láminas germinales primarias, que nunca son innervadas, y existen sólo como tejidos embriónicos accesorios. Ellas son genéticamente idénticas al feto, pero tienen un tiempo de vida limitado, estando presentes sólo hasta el punto en el que el feto se desarrolla lo suficiente para convertirse en un individuo funcional. De acuerdo con el punto de vista de esta investigación en particular, la placenta puede ser considerada como una región especializada de las membranas; se puede pensar que las membranas son apéndices de la placenta. Ambos son puntos altamente especializados de la interacción materno-fetal, las cuales parecen tener su mayor importancia, tanto en el mantenimiento del embarazo como en el parto, en los vertebrados superiores. El objetivo de la investigación será las membranas fetales extra-placentarias, amnios, corion y la decidua materna contigua, las cuales también han sido descritas como una membrana por sí mismas (1,2). La marcada diferencia entre los tipos morfológicos de las membranas presentes en todos los vertebrados, puntualiza la necesidad de enfocarnos en una sola especie.

El embarazo y el parto en los humanos representan un grupo único de problemas particularmente para las membranas fetales las cuales forman un

continente biomecánico ajustable al crecimiento y movimientos del feto dentro de un bípodo erguido. Quizá la evolución de esta postura ha llevado a una dificultad relativa para el nacimiento en nuestra especie (3). La postura erguida es significativa para las membranas fetales y representa para ellas un mayor reto mecánico que en otras especies.

Durante el embarazo existe la necesidad que las membranas fetales sean lo suficientemente fuertes y elásticas para soportar un estiramiento del doble de su tamaño al momento del término del embarazo (4,5) y simultáneamente resistir los movimientos fetales vigorosos (6). Por otro lado, la construcción de una estructura gruesa pero elástica, como son los tejidos elásticos normales, pudieran prevenir la necesidad de una ruptura programada de las membranas, lo cual es un evento normal durante la primera etapa del trabajo de parto. Para la mayoría de los embarazos, el trabajo de parto comienza a las 38-42 semanas de gestación en presencia de membranas intactas. La ruptura a término antes de la aparición de contracciones uterinas regulares ocurre en cerca de 2 % - 18 % de los embarazos (7). Esto puede ser una imprecisión fisiológica de la sincronización con algunas consecuencias adversas. En marcado contraste, la ruptura prematura en embarazos pretérminos precede en un 30 % - 40 % de todos los partos y conlleva riesgos significativos para el producto. Es un evento patológico raro y no existe en otros vertebrados. Además, la comprensión de los componentes estructurales básicos de las membranas fetales humanas, y cómo ellos se adaptan a las necesidades de cambio cuando el contenido uterino aumenta, es fundamental para el eventual control de este gran problema de salud. También nos hace preguntar sobre lo apropiado de los modelos

Recibido: 22-08-02

Aceptado para publicación: 05-02-03

animales para los estudios del embarazo y el parto en los humanos (8). Las membranas fetales humanas son tejidos relativamente accesibles, durante ciertos momentos del embarazo. Usar muestras de tejidos pretérminos los cuales son patológicos puede representar una desventaja, pero esto es opacado por la relevancia clínica de los datos obtenidos. Sin embargo, esta revisión se enfoca tanto como es posible en el conocimiento actual de los principales componentes de la matriz extracelular de las membranas fetales en embarazos a término en humanos.

Organización de las membranas fetales

Están disponibles muchas descripciones de la formación de la placenta y las membranas fetales. Sin embargo, la complejidad de la formación enmascara los orígenes del amnios, del corion y su desarrollo. El corion se forma del blastocisto implantado en el polo que apunta hacia la cavidad endometrial, la cual es cubierta por el corion frondoso y la decidua capsular. El flujo de sangre se restringe en esta área y las vellosidades degeneran formando el corion avascular. El amnios se forma separadamente del componente epitelial y mesenquimal y se fusiona con el mesodermo del corion formando el "corioamnios". Cuando el embrión crece, el remanente de la decidua vascular adherida al corion se opone a la decidua parietal materna. Además, el útero ofrece soporte a las membranas fetales las cuales se alinean completamente con éste a la mitad del embarazo.

La organización normal y la anatomía microscópica del corion y amnios humano han sido descritas en detalle por los estudios clásicos de Bourne (9) y es difícil mejorarlo. El diagrama de Bourne muestra la organización general de este sistema de multicapas. La capa más interna es el epitelio amniótico, en contacto directo con el líquido amniótico. Éste se superpone a la membrana basal la cual se opone a la capa compacta, que varía en espesor. Sobre ésta se ubica la capa de fibroblastos, una región de células mesenquimales dispersas. La capa esponjosa es rica en proteoglicanos los cuales permiten el paso del agua, facilitando que el amnios pueda deslizarse sobre el corion, un mecanismo que ha sido propuesto como un sistema de reparación mecánica a corto plazo (10,11). La matriz extracelular coriónica subyacente y las células del citotrofoblasto en el embarazo a término están firmemente adheridas a la decidua materna y cuando se usan marcadores específicos para las células deciduales es común

encontrar a estas células infiltrando a través del citotrofoblasto hacia la membrana pseudobasal.

La ultraestructura de las membranas amnióticas ha sido objeto de un gran número de estudios a nivel de la microscopía electrónica de transmisión (12-15). Los principales componentes son células y matriz extracelular. Las primeras son responsables de la síntesis, degradación y recambio de la última. La matriz extracelular en cambio influye sobre las funciones de los componentes celulares durante el embarazo. La mayor fuerza ténsil del amnios es dada por los colágenos de la capa compacta más allá del epitelio amniótico. Sin embargo, este arreglo de los colágenos más allá del intersticio y conectados a los colágenos de la membrana amniótica basal da fuerza extra a los tejidos expuestos a las fuerzas mecánicas tanto de tipo repetitivo, como en los vasos sanguíneos, o de tipo continuo como el que es necesario cuando las membranas son estiradas en el embarazo a término (16).

Principales componentes extracelulares Colágenos

Se conocen hasta el momento por lo menos 19 tipos genéticamente distintos de colágenos, los cuales son codificados por lo menos por 30 genes formando una familia especializada de glicoproteínas estructurales. La clasificación como colágeno está basado sobre si contiene una secuencia repetida de Gli-X-Y y si éste forma un componente integral de la matriz extracelular (17). El conocimiento de cómo se ensambla la triple hélice de colágeno y cómo interactúa con otros componentes extracelulares de la matriz se ha incrementado rápidamente en años recientes y ha sido discutido con detenimiento.

Los colágenos son los principales componentes estructurales de las membranas fetales como se ha demostrado tanto por estudios de extracción y caracterización (18,19) como su inmunolocalización específica dentro de estos tejidos (20-22).

La mayor fuerza ténsil de las membranas fetales es provista por los colágenos intersticiales, tipo I y III, junto con pequeñas cantidades de los tipos V, VI y VII en la capa compacta sobre la membrana amniótica basal (22). Esta última es una membrana basal clásica del colágeno tipo IV, la cual da una base para el ensamblaje de otros componentes de la membrana basal: laminina, entactina/nidógeno y el proteoglicano heparan sulfato. Sin embargo, los componentes colágenos cuantitativamente menores, tipos V, VI y VII, en la región compacta son

importantes para el reforzamiento debido a que los tipos V y VI forman fibrillas heterotípicas con los colágenos tipo I y III. El colágeno tipo V es considerado un colágeno fibrilar menor, pero su distribución en la vecindad inmediata de la membrana amniótica basal sugiere que también realiza funciones de anclaje en este punto (22).

Aunque el colágeno tipo IV está asociado con las membranas basales, pero en este caso es parte integral de la lámina basal del epitelio amniótico y de la membrana pseudobasal del corion, Malak y col. (22) demostraron su amplia distribución a través de estos tejidos. Se ha sugerido que el colágeno tipo IV puede también tener un papel en el desarrollo y mantenimiento de la estructura de la matriz (23). El colágeno tipo IV también se encontró distribuido a lo largo de todos estos tejidos (22) apoyando la visión que este colágeno está probablemente diseminado en los tejidos conectivos. El colágeno tipo VII da fijación adicional, uniendo la lámina basal del epitelio amniótico a la matriz extracelular subyacente en forma de fibrillas de anclaje (24). Este es un colágeno particularmente largo el cual forma dímeros antiparalelos, el principal constituyente de las fibrillas de anclaje (17). El colágeno tipo XIV, un colágeno asociado a las fibrillas (17), también está presente en la matriz del amnios-corion y la membrana basal de la decidua. Estos colágenos menores pueden ser importantes para la estabilidad mecánica de los tejidos y dan elasticidad frente al estiramiento que sufren durante la parte final del embarazo. No debe olvidarse que las estructuras intracelulares también dan fuerza potencial y capacidad de reparación al amnios-corion (25), esto ha sido descrito con detenimiento y está más allá del objetivo de este estudio.

Los primeros informes describían que el colágeno tipo I y III estaban asociados con las células del citotrofoblasto (14). Estudios más recientes, sin embargo, no han demostrado que éste sea el caso (21,22). El colágeno tipo IV, por otra parte, ha sido identificado en asociación con estas células en todos los estudios de inmunolocalización (14,21,22). El corion tiene una función tanto protectora contra el rechazo inmunológico (26) como también es responsable de la desactivación de un número importante de hormonas, prostaglandinas, ocitocina y endotelina-1 producidas localmente (27). La matriz extracelular asociada con las células citotrofoblásticas coriónicas pueden ser importantes para la fijación de la decidua hasta el parto, separación y desprendimiento que ocurren en la estría decidua,

dejando a la lámina decidua capsular / parietal adherida al corion. La existencia de cavidades irregulares en la placa basal de la necrosis o apoptosis de células trofoblásticas o deciduales incluidas en la matriz de fibrinoide, es un factor que debilita la región a ser desprendida, las cuales envejecen y mueren en la unión feto-materna (28). Es posible que los componentes de anclaje envejecidos o muertos, contribuyan a originar estas cavidades (29). Este tejido ha sido preparado para un evento similar al que ocurre al final del ciclo menstrual (28).

Las células epiteliales amnióticas sintetizan tanto el colágeno constituyente de su lámina basal (tipo IV) como los colágenos del estroma intersticial (tipo I y III) de la lámina compacta (14). Se ha demostrado que la producción de estos componentes de la matriz extracelular continúa hasta el término del embarazo. Estudios recientes han usado preparaciones similares de células epiteliales amnióticas, además de cultivos de células mesenquimales confluyentes que se aislaron del estroma y se usaron en paralelo. Se demostró que la síntesis de los colágenos intersticiales era una función primaria, pero no exclusiva, de las células mesenquimales más que de las células epiteliales (30). Se observó que la mayor actividad de síntesis del mesénquima para el colágeno intersticial era temprana en el embarazo, declinando al término de éste. Sin embargo, esto va en paralelo con una disminución de la densidad de las células mesenquimales por unidad de área de amnios. El cultivo de tejidos a término, por otra parte, los cuales mantienen la matriz y las células intactas y en condiciones similares a la situación *in vivo*, sugiere que tanto las células epiteliales como mesenquimatosas contribuyen a la producción, por lo menos, del colágeno tipo III (31). La función de las células aisladas *in vitro* tiene que probar ser iguales a aquellas *in vivo* antes que se puedan obtener conclusiones firmes (32). Además, se han reportado cambios en el fenotipo de las células epiteliales amnióticas cuando se cultivan con diferentes condiciones (14) y la producción *in vitro* de factores de crecimiento, citokinas, prostaglandinas u hormonas por las células de la decidua depende mucho de las condiciones usadas (33). Sin embargo, parece que aun en embarazos a término, la capacidad de reforzar la capa compacta por síntesis de colágenos intersticiales tanto por la producción epitelial como por la producción mesenquimal está presente.

La decidua humana es una mezcla de células maternas de diferentes orígenes junto con abundante matriz extracelular. El punto de contacto entre el

citotrofoblasto y la decidua materna es una región importante, debido a que los nutrientes que necesita la decidua difunden a través del corion avascular, al mismo tiempo que se necesita mantener una barrera inmunológica. Las verdaderas células deciduales derivan del estroma uterino materno, pero la comunicación intercelular está ausente en los humanos y tiene uniones inusuales donde las proyecciones de las células se prolongan y se unen a las mismas células deciduales (34). Hay una gran población (más de 47 %) de células derivadas de la médula ósea en la decidua humana en el embarazo a término (35,36). Estas células menores tienen conexiones especializadas a las células deciduales, sugiriendo una comunicación cruzada entre diferentes tipos de células. Alrededor de cada célula decidual con sus macrófagos y linfocitos que las acompañan tienen una membrana basal pericelular distinta (1,2). La matriz en esta posición puede ayudar al anclaje de los macrófagos migratorios a la decidua. También puede representar un papel significativo en la dirección del flujo de las señales paracrinas desde y hacia las células deciduales; por ejemplo, la prolactina decidual es transportada a través de las membranas fetales hasta el líquido amniótico (37). Se han demostrado cambios degenerativos a nivel ultraestructural que ocurren en las células deciduales, los cuales se inician a nivel mitocondrial.

Las células deciduales también tienen prolongaciones en forma de mazo o tocón que se proyectan a su periferia. Estos contienen gránulos unidos a las membranas que secretan el proteoglicano heparan sulfato (38). La inmunolocalización muestra coloración para heparan sulfato dentro de la célula y en el espacio extracelular. El heparan sulfato puede ser importante debido a su capacidad de unir el colágeno tipo V (39), detectado en pequeñas cantidades en la decidua (21,22). Hallazgos recientes sugieren que el dermatan sulfato es una importante molécula de transporte que ayuda a organizar el colágeno (40). También puede representar un papel en la permeabilidad selectiva de la lámina decidual, mediante la comunicación molecular entre las células deciduales y el citotrofoblasto fetal (38). Un estudio sugiere que el colágeno tipo IV asociado a las células deciduales está disminuido en casos de aborto espontáneo en la fase temprana del embarazo. Ese es el primer informe que asocia la matriz con situaciones patológicas. Sin embargo, no está claro aún si éste es el resultado de la disminución de su síntesis previa al aborto o debido al incremento de la

degradación de colágeno asociada con estos eventos (41). Estudios posteriores de este tipo son necesarios para entender las funciones de los diferentes tipos de colágeno de las membranas fetales en la fisiopatología del embarazo.

Elastina y microfibrillas

Las membranas fetales han sido descritas como tejidos viscoso-elásticos debido a su componente elástico recuperable y un elemento no recuperable o de arrastre (42). Los esfuerzos para identificar las fibras elásticas dentro de la matriz extracelular como base para su elasticidad, por coloración histológica o por análisis químico de los extractos, no habían sido exitosos hasta hace poco tiempo (14,15,19,43-45). El ensamblaje de la fibra elástica es altamente complejo, como se esperaría de tan grandes polímeros multicomponentes. La elastina es un componente amorfo de las fibras elásticas la cual es ensamblada de una familia de proteínas precursoras colectivamente llamadas tropoelastina. Las isoformas solubles de tropoelastina son ensambladas en fibras elásticas insolubles fuera de las células. La enzima lisiloxidasa es responsable de los puentes, estabilización y formación de las uniones entre desmosina e isodesmosina las cuales son únicas para la elastina (46). Sin embargo, los depósitos y cruces de elastina son el último evento en la formación de una fibra, la estructura sobre la cual se construye está formada por microfibrillas basadas en fibrilina (47). Esto puede ser observado en tejidos que no están asociados con la elastina. Además, tales microfibrillas han sido identificadas en las membranas fetales y se usan como modelos para el estudio de las microfibrillas *per se* (15,48,49). En los estudios de inmunolocalización, las microfibrillas han mostrado ser abundantes tanto en las capas mesenquimal y reticular como en la capa compacta del amnios y los espacios intercelulares del citotrofoblasto (15). Esta abundancia de microfibrillas, su orientación dentro de los haces colocados en paralelo al plano de las membranas fetales, y la ausencia de elastina detectable, lleva a la proposición que las microfibrillas solas pueden dar la elasticidad necesaria a las membranas fetales (15). Una conclusión similar se determinó para la placenta, donde la fibrilina-1, un componente mayor de las microfibrillas, se encontró en muy altos niveles cuando se compara con otros tejidos en el adulto (49). Sin embargo, es aún controversial si las microfibrillas solas, sin la elastina, son capaces de dar la propiedad de elasticidad. Ellas son capaces de

alargarse pero no de contraerse.

Estudios recientes han reinvestigado si la elastina se encuentra y deposita como una fibra en las membranas fetales (45). Estos estudios muestran que el amnios, corion y decidua poseen el ARNm para la tropoelastina, y que se transloca como lo demuestran las pruebas de inmunolocalización. La fibra elástica en la membrana fetal ha sido evasiva debido a su relativo menor tamaño en comparación a la fibra elástica clásica (45). Se desarrollaron y aplicaron técnicas para la detección de la elastina o de una fibra elástica a tejidos muy ricos en elastina. Pequeñas cantidades de elastina detectadas primeramente en el útero y el cuello uterino, se consideraron fisiológicamente insignificantes (50). Otro índice del contenido de elastina cuantificado en el tejido fue el nivel de desmosina e isodesmosina presente, el cual también representa el grado de entrecruzamiento de los monómeros de elastina. Se puede observar que las fibras elásticas en las membranas fetales son una décima parte de las encontradas en el útero, las cuales son aproximadamente un décimo del tamaño de las fibras encontradas en la aorta. El peso del componente elástico derivado de este tejido también es proporcional al grosor de la fibra. El grado de entrecruzamientos, de acuerdo al análisis de desmosina/isodesmosina, es más variable, debido al grado de pureza de los extractos analizados. Los puentes relativos de la elastina en la aorta y el útero concuerdan con los tamaños relativos de sus fibras elásticas. Los datos de las membranas fetales sugieren un buen grado de puentes de estas fibras muy pequeñas. Tal estabilización puede ser importante para este sistema de pequeñas fibras la cual está dispersa dentro de la matriz extracelular. Estas pequeñas fibras se encuentran justo en el límite inferior de visualización a la microscopia de luz luego de la coloración clásica de hierro hematoxilina de Verhoeff (45). La visualización con microscopia electrónica de un extracto de fibra elástica también ofrece evidencias sobre las fibrillas, similar a aquellas previamente identificadas en el útero y el cérvix (51). El grosor de las fibras elásticas de las membranas fetales sugiere que puede encontrarse una limitación a la formación de fibras más gruesas. No hay necesidad de elasticidad en las membranas fetales, pero su ruptura normal en embarazos a término sería impedida si se ensamblan fibras más gruesas. No se sabe aún como se limita su grosor, pero debe estar asociado tanto a isoformas simples de tropoelastina encontradas en estos tejidos

a los cuales se les ha eliminado dos exones (45), o a la expresión de un transcriptor relacionado a la elastina de 1,3 kb; además del transcriptor de 3,5 kb de tropoelastina tradicional el cual no se encuentra en otros tejidos humanos. A pesar del pequeño tamaño de estas fibras elásticas, se ha sugerido, que la elasticidad reducida de las membranas fetales está relacionada con su ruptura antes del trabajo de parto en cualquier etapa de la gestación (4). Sin embargo, se ha determinado que en la ruptura de las membranas en forma prematura en embarazos pretérminos, entre las 26 y 36 semanas de gestación, el gen de la tropoelastina se encuentra en forma menos significativa ($p = 0,03$) que en tejidos similares tomados de mujeres con parto pretérmino y contracciones uterinas prematuras pero con membranas intactas.

La enzima lisiloxidasa, responsable de los cruces de alisina en el colágeno puede también ser responsable de los puentes de desmosina/isodesmosina en la elastina (52). Su ARNm se expresa como tres transcripciones, detectadas en las membranas fetales (45). La actividad de esta enzima ha mostrado estar en altos niveles recientemente en el amnios en forma temprana (12-14 semanas) durante la gestación, disminuyendo luego hasta llegar al término del embarazo (53). Este estudio también demostró que la mayor porción de la actividad de la lisiloxidasa estaba asociada con las células amnióticas mesenquimales, complementando los datos de estos autores que demostraron que la síntesis intersticial de colágeno es también realizada en forma primaria por estas células, al menos las células aisladas *in vitro* (53). Hay mucho más colágeno sintetizado por las membranas fetales que elastina, lo cual sugiere que la disponibilidad de lisiloxidasa no es un factor limitante en los puentes de la fibra elástica de la membrana fetal. Sin embargo, aún hay mucho que aprender sobre la lisiloxidasa, y cómo ésta, es responsable de los puentes entre colágenos y de las fibras elásticas. Una segunda sustancia parecida a la lisiloxidasa con una secuencia y estructura similar ha sido recientemente descrita (54). Esta proteína derivada parece estar relacionada en forma funcional a la lisiloxidasa, pero su relación precisa con la lisiloxidasa está actualmente en estudio. Esta sustancia similar a la lisiloxidasa, sin embargo, se encuentra principalmente en las membranas fetales de los embarazos a término a diferencia de su contraparte clásica y su presencia parece estar más relacionada al gen de tropoelastina en estos tejidos que la lisiloxidasa clásica. Hay una

clara necesidad de mayores estudios de este sistema en las membranas fetales y relacionar los componentes a la fisiopatología de la ruptura prematura de las membranas fetales.

Fibronectina

Las fibronectinas son glicoproteínas sintetizadas por una amplia variedad de tipos celulares los cuales dirigen su organización subsiguiente en las fibrillas de la matriz extracelular. Esta compleja familia de proteínas es el producto de un solo gen, el cual puede, por división alternativa, producir 20 diferentes tipos de subunidades de fibronectina humana. Las fibronectinas se han comparado a una "goma" debido a sus múltiples capacidades de unión tanto a las células como a otros componentes de la matriz, las cuales estabilizan todo el sistema de células y matriz (55). Esto se logra por grupos especiales, de por lo menos seis sitios peptídicos capaces de mediar en la adhesión celular. La mayoría de las células pueden adherirse a la fibronectina mediante un lugar de unión celular ubicado en forma central, los aminoácidos arginina, glicina, aspartato y serina son cruciales para esto. Hay seis diferentes tipos de receptores celulares de superficie o integrinas las cuales reconocen estos sitios, pero la conformación de la fibronectina también es importante para la especificidad y afinidad del reconocimiento de la fibronectina por estas células. El mayor receptor de integrinas, el cual se une al ligando fibronectina, es designado $\alpha 5 \alpha 1$ y fue el primero de estos receptores aislado y caracterizado y es descrito ahora como el receptor de fibronectina clásico. La fibronectina también tiene dos sitios de alta afinidad específica para la heparina, cada uno localizado en los extremos de la molécula. Se ha demostrado que esta unión es importante en ciertas células para organizar sus enlaces microfilamentosos intracelulares eficientemente.

La molécula de fibronectina es compleja, cada cadena de fibronectina forma dímeros de 250 000 Da y polímeros asociados a la superficie celular. Ésta también es dinámica debido a que este tipo de contactos entre la fibronectina y las células y otros componentes de la matriz pueden estar en cambio constante de acuerdo a sus necesidades en cualquier momento.

La fibronectina en las membranas fetales es del tipo onco-fetal, una forma glicosilada única, que se encuentra asociada a tumores y tejidos fetales. Los estudios de inmunolocalización han demostrado que ésta tiene una distribución aún más generalizada en

la matriz extracelular de las membranas fetales, desde la decidua parietal hasta la membrana basal del amnios (56). Sin embargo, la coloración más intensa en ese estudio se encontró entre los citotrofoblastos coriónicos.

Los estudios de inmunolocalización de los receptores de fibronectina han demostrado expresiones diferentes de las subunidades receptoras de integrinas en las membranas fetales (57) y muestran que los citotrofoblastos localizados en la decidua contienen el receptor fibronectina-integrina $\alpha 5 \alpha 1$. Los mecanismos por los cuales las células modifican sus contactos con la fibronectina podrían incluir la regulación de la cantidad de ligandos y receptores presentes y alteración de la afinidad ligando/receptor. La ruptura de la unión fibronectina-matriz extracelular puede ser mecánica o enzimática. La activación decidual (58) hacia el término del embarazo puede involucrar la pérdida de contacto entre la fibronectina y las células (59). Esta separación puede ser el resultado de la disociación de la unión de la fibronectina a sus receptores y a las proteínas extracelulares, por tanto la fibronectina libre es detectable en secreciones vaginales y cervicales (60). Tanto la forma intacta como la degradada está presente en estas secreciones (60) lo cual parece ser el resultado del activador de plasminógeno tipo urocinasa derivado del trofoblasto (61).

La prueba clínica para la fibronectina se usa en la actualidad para detectar el inicio del trabajo de parto a término o pretérmino y ha sido validado por numerosos estudios (56,62). Un estudio usando un anticuerpo monoclonal para la secuencia del receptor de fibronectina mostró la presencia de algunas enzimas metaloproteinasas importantes inducidas por la unión fibronectina-ligando (63). Las alteraciones en la interacción entre la fibronectina y su receptor pueden ser señal de que las células secretan metaloproteinasas, colagenasa intersticial (MMP-1) y estromalisina (MMP-3). Estas enzimas modifican el colágeno intersticial permitiendo una mayor degradación por enzimas menos específicas. Estos datos sugieren que un ajuste homeostático temporal por un componente de la matriz extracelular, modula otro componente de la matriz mediante la señalización celular, lo cual puede ser de importancia particular para las membranas fetales. Se necesita más investigación enfocada sobre este proceso para obtener las pistas necesarias en la secuencia de eventos que ocurren en las membranas fetales antes del parto.

Lamininas

Las lamininas son el mayor componente de las membranas basales, y se forman por varias subunidades unidas por enlaces disulfuros, formando estructuras puente. A diferencia de la fibronectina, las lamininas son el producto de varios genes similares pero diferentes los cuales producen siete isoformas distintas. Las células también interactúan con las lamininas por reconocimiento específico de las secuencias y por receptores integrinas. Aún no está claro si estos receptores están involucrados en esta unión, debido a que ellos aparecen con gran variabilidad de acuerdo a cada tipo celular en comparación a lo que ocurre con la fibronectina. Sin embargo, como la fibronectina, la laminina tiene más de un sitio de unión a una célula. Las lamininas fueron identificadas por Alitalo y col. (64), como producto de las células epiteliales amnióticas humanas. Una nueva variante ha sido descrita en asociación con la laminina 7 (65). Estas lamininas anclan tanto las células a la membrana basal como la membrana basal del epitelio al estroma subyacente, mediante el colágeno tipo VII (66). Sin embargo, las lamininas realizan una significativa función de fortalecimiento en el amnios humano. Un estudio por microscopía electrónica también localizó las lamininas en la membrana basal alrededor de la decidua humana (67), y recientemente ha sido aún mejor descrita (68). Se demostró que estas lamininas eran los únicos componentes en el tejido mesenquimal adulto bajo regulación hormonal. Su función precisa se desconoce, pero se postula que pueden tener un papel en la adhesión, migración y diferenciación de las células trofoblásticas invasoras en el embarazo temprano. Su papel, si existe alguno, durante el embarazo o su término también es desconocido.

Otros componentes menores no colágenos de la matriz extracelular o componentes asociados con la matriz han sido localizados en una variedad de sitios en las membranas fetales incluyendo la decorina (69) y el plasminógeno (15).

Las metaloproteinasas de la matriz: Remodelación de la matriz extracelular

Las metaloproteinasas de la matriz (MMPs) son una familia de enzimas con amplias especificidades para los componentes de la matriz extracelular, así la colagenasa intersticial (MMP-1) es la enzima responsable de la ruptura directa de los colágenos intersticiales. Las gelatinasas (MMP-2, MMP-9); por otra parte, rompen los componentes de la

membrana basal, mientras que la estromalisina (MMP-3, MMP-7 y MMP-10) tienen una mayor especificidad por proteoglicanos, fibronectinas y colágenos (70). Todos los miembros de esta familia de enzimas se producen como una pro-enzima secretada o en forma de zimógeno, el cual posteriormente es activado por otros miembros de la familia MMP o por la plasmina. Esta activación se produce en forma de pasos, en la cual parte de las enzimas son cortadas hasta que éstas son activas. Los nuevos miembros, que forman un subgrupo, se han identificado recientemente. Éstas han sido designadas como MMPs 14 al 17, sin embargo, ellas contienen dominios transmembranas únicos los cuales las unen dentro de la membrana celular y se llaman enzimas unidas a membranas o MT-MMPs (numeradas del 1-4) (71,72).

Las MMPs son enzimas destructivas y la producción de sus formas activas es mantenida por un proceso escalonado, a través de la regulación de su actividad completa. Además, la mayoría de las células que las producen también producen un inhibidor, la metaloproteinasas inhibidora tisular (TIMP), como una verificación posterior de su actividad. Hay cuatro TIMP identificados (70). La expresión de estas enzimas, sus activadores e inhibidores en el tejido reproductivo, incluyendo las membranas basales y la decidua es el tópico de una revisión por Hulboy y col. (72).

El sistema completo de enzimas, activadores e inhibidores están presentes en las membranas fetales y son responsables tanto de la acomodación y los ajustes menores de la matriz necesaria durante el crecimiento del feto, como de los cambios mayores que involucran la ruptura de las membranas, tanto a término como pretérmino. Parece que existe alguna compartimentalización. Además, la MMP-1 y MMP-3 han sido detectadas en las células del amnios, corion y decidua tanto por hibridación *in situ* de su ARNm como por inmunolocalización de proteínas, pero ellas predominan en las células del epitelio amniótico y el citotrofoblasto (73-76). El TIMP-1 tiene una distribución similar por inmunolocalización (76), sin embargo, parece que se encuentra en el mesénquima que está opuesto a las células epiteliales del amnios (77).

Los cambios temporales en el período periparto en la expresión de algunas MMPs claves, se buscó un activador e inhibidor en la decidua coriónica (78). En el período en ausencia del trabajo de parto, la colagenasa intersticial (MMP-1) parece dominar, pero con la aparición del trabajo de parto los niveles

de estromalisina (MMP-3 y de gelatinasa (MMP-9) están aumentadas. Luego del parto, la MMP-1 y la gelatinasa MMP-2 se incrementa. En otro estudio, la presencia de MMP-9 se incrementa significativamente posterior al parto (79). Estos estudios dan una visión sobre la secuencia normal tanto de los eventos de remodelación en las membranas fetales y la decidua, como los eventos que preceden a la ruptura de las membranas. En presencia de infección intrauterina, un evento mayor y final en el embarazo, el sistema de citocinas es estimulado por la infección y esto causa incremento en la producción de MMP (80). Esto entonces debilitaría las membranas y causaría su ruptura, resultando en separación y nacimiento del feto por la mayor fuente de infección. Sin embargo, sin infección las membranas también pueden debilitarse y romperse, causando un parto pretérmino (81). Estos eventos han propuesto que la hormona decidual relaxina es una de varias hormonas locales que estarían involucradas en esta situación (82). La relaxina es producida por las células deciduales (83), tiene receptores en la decidua y las células citotrofoblásticas coriónicas (84), las mismas células que producen MMP-1 y MMP3 (75,76). Cuando la relaxina humana se agrega a las membranas fetales *in vitro*, esto produce un incremento dosis dependiente en la localización de los genes, proteínas y actividades de MMP1-1, MMP-3 y MMP-9, pero no en la MMP-2 o en el inhibidor TIMP-1. (75,76). Además, la relaxina ha demostrado que produce activación de una cascada enzimática dentro de las membranas fetales, lo cual resulta en degradación de una amplia escala de componentes extracelulares. Esto concuerda con otros estudios, los cuales muestran que la relaxina agregada a las membranas fetales *in vitro* causan un 30 % de disminución en la fuerza ténsil de los tejidos después de 20 horas (85).

Matriz extracelular:

Papel en la señalización de la membrana fetal

Se ha propuesto un catálogo de algunos de los principales componentes de la matriz y de las enzimas las cuales lo remodelan. Sin embargo, falla en explicar el importante concepto de cómo los componentes se unen los unos a los otros, y cómo las células afectan su formación y organización. Mientras que los componentes de la matriz extracelular son responsables de las propiedades biomecánicas del tejido, también deben ser vistos como elementos mecánicos de un amplio sistema de señalización, los cuales también incluye el sistema

autocrino/paracrino (86,87). Los dos elementos interactivos permiten a las células y la matriz responder a las necesidades cambiantes del tejido.

La distensión mecánica puede resultar en cambios de la respuesta autocrina-paracrina y en distorsión de la matriz extracelular. También lo último puede afectar el sistema autocrino paracrino (87). Juntos determinan la pérdida y formación de contactos célula-matriz entre los receptores de integrinas celulares, fibronectinas, lamininas y el control de la inducción y activación de las MMPs degradativas. Los reguladores autocrino-paracrino involucrados incluyen hormonas, citocinas, factores de crecimiento, y la matriz extracelular y sus fragmentos. En la situación homeostática normal, hay una ruptura continua y reformación de componentes de la matriz extracelular afectando el contacto dinámico de los componentes de la matriz entre ellos y las células que lo conforman. Previo al parto, los reguladores autocrino-paracrino y la matriz extracelular pueden responder a la distensión uterina y al estiramiento de las membranas fetales con una pérdida coordinada de los contactos célula-matriz. Se ha demostrado, por ejemplo, en el hueso, donde las uniones del osteoblasto a la matriz extracelular son inhibidas por los glucocorticoides (88). Una pérdida similar de contactos previos al parto en respuesta al estiramiento, resultaría en la liberación de fibronectina de las células y la matriz, y su detección en las secreciones vaginales y cervicales (57). Esto también puede resultar en un incremento de la apoptosis, mostrada por dos de las líneas celulares (89), y se ha demostrado el incremento en el epitelio amniótico de la rata previo al parto (90).

Los reguladores autocrino-paracrino y la matriz extracelular pueden estimular la producción y la liberación de las MMPs, quizás inicialmente por MMPs unidas a la membrana recientemente descrita (71,72). Hay una mayor especialización de las MMPs, aquellas que degradan el colágeno intersticial y las membranas basales son diferentes y se muestran separadamente. De los estudios *in vivo*, parece que la expresión MMP-1 y la MMP-3 se incrementa antes que la de MMP-2 y MMP-9 (78). La integridad de las membranas basales protege a las células epiteliales de la apoptosis (33) una elevación en la MMPs las cuales pueden degradar la membrana basal (MMP-2 y MMP-9), puede resultar en incremento de la apoptosis, enfatizando que el proceso de degradación está programado. Se ha demostrado que en la ruptura de las membranas fetales en embarazos pretérminos, hay un incremento

en la actividad de las proteasas en el amnios y el corion, estas enzimas fueron definidas como MMPs (91). Además, en el líquido amniótico de estas mujeres, hay una elevación significativa de la actividad atribuida a la MMP-9, la cual puede ser el punto final de la cascada de MMPs (76,79). Está claro que esta clase de enzimas puede ser la clave para entender los diferentes cambios que ocurren en las membranas fetales tanto en el embarazo a término normal y en las condiciones patológicas.

El resultado neto sería la separación de las capas de las membranas fetales, particularmente en el punto de contacto materno-fetal, la corio-decidual. Ésta es una manifestación clínica de trabajo de parto temprano, y alteraría las propiedades ténsiles del amnios y del corion las cuales son más fuertes cuando están unidas firmemente (91). El efecto final de esto sería la ruptura de las membranas, la pérdida de líquido amniótico y el parto pretérmino o a término.

A pesar del incremento de la cantidad de información, en años recientes sobre componentes de la matriz extracelular, se necesita mayor información para determinar la forma y funciones de las membranas fetales. Estos tejidos son accesibles en el humano y son un sistema modelo bueno en el cual estudiar estas interacciones. Se espera que tales explicaciones derivadas de numerosos campos, desde la biología normal hasta la fisiopatología de estos tejidos serán comprendidas, debido a que aquí se encuentra la clave para el entendimiento de los eventos que preceden al parto y el eventual control de parto pretérmino.

REFERENCIAS

- Damjanov I. Vessalius and Hunter were right: Decidua is a membrane. *Lab Invest* 1985;53:597-598.
- Wener U, Faber M, Liotta L, Albrechtsen R. Immunochemical and ultrastructural assesment of the nature of the pericellular basement membrane of human decidual cells. *Lab Invest* 1985;53:624-633.
- Fischman J. Putting a new spin on the birth of human birth. *Science* 1994;264:1082-1083.
- Parry-Jones E, Priya S. A study of the elasticity and tension of the fetal membranes and the relation of the area of the gestational sac to the area of the uterine cavity. *Br J Obstet Gynaecol* 1976;142:363-371.
- Alger L, Pupkin M. Etiology of preterm premature rupture of the membranes. *Clin Obstet Gynecol* 1986;29:758-770.
- Patrick J, Campbell K, Carmichael L, Natale R, Richardson B. Patterns of gross fetal body movements over 24 hour observation intervals during the last 10 weeks of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1982;142:262-271.
- Gunn G, Misheil D, Morton D. Premature rupture of fetal membranes: A review. *Am J Obstet Gynecol* 1970;106:469-473.
- Gura T. Mouse models for pregnancy problems? *Science* 1996;274:922.
- Bourne G. The microscopic anatomy of the human amnion and chorion. *Am J Obstet Gynecol* 1960;79:1070-1073.
- French J, McGregor J. The pathobiology of premature rupture of membranes. *Sem Perinatol* 1996;20:344-368.
- Behzad F, Dickinson M, Charlton A, Aplin J. Sliding displacement of amnion and chorion following controlled laser wounding suggests a mechanism of short term sealing of ruptured membranes. *Placenta* 1994;15:775-778.
- Hoyes A. Ultrastructure of the mesenchymal layers of the human amnion in early pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1970;106:507-562.
- Van Herendael B, Oberti C, Brosens I. Microanatomy of the human amniotic membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1978;131:872-879.
- Aplin J, Campbell S, Allen T. The extracellular matrix of human amniotic endothelium: Ultrastructure, composition and deposition. *J Cell Sci* 1985;79:119-136.
- Malak T, Beil S. Distribution of fibrillin-containing microfibrils and elastin in human membranes: A novel molecular basis for membrane elasticity. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:195-205.
- Woessner J. Introduction to serial reviews: The extracellular matrix. *FASEB J* 1993;7:735-736.
- Prockop D, Kivirikko K. Collagens: Molecular biology, diseases and potentials for therapy. *Ann Rev Biochem* 1995;64:403-434.
- Burgeson R, El Adil F, Katila I, Hollister D. Fetal membranes collagens: Identification of two new collagens alpha chains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976;73:2579-2583.
- Kanayama N, Terao T, Kawashima Y, Horiuchi K, Fujimoto D. Collagen types in normal and prematurely ruptured amniotic membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1985;153:899-903.
- Aplin J, Campbell S. An immunofluoresce study of extracellular matrix associated with cytotrophoblast of the chorion laeve. *Placenta* 1985;6:469-476.
- Dieron D, Bryant-Greenwood G. Collagens, collagenolytic enzymes and inhibitors in the human fetal membranes and decidua. *Troph Res* 1991;5:205-216.
- Malak T, Ockleford C, Bell S, Dagleish R, Bright N, MacVicar J. Confocal immunofluorescence localization of collagen types I, III, IV and VI and their ultrastructural organization in term fetal membranes. *Placenta*

- 1993;14:385-406.
23. Modesti A, Scarpa S, D'Orazi G, Simonelli L, Caramia F. Localization of type IV and V collagen in the stroma of the human amnion. *Develop Ultrastructure. Reprod* 1989;296:459-463.
 24. Keene D, Sakai L, Lunstrom G, Morris N, Burgesson R. Type VII collagen forms an extended network of anchoring fibrils. *J Cell Biol* 1987;153:899-903.
 25. Ockelford C, Malak T, Hubbard A, Bracken K, Burton S, Bright N, et al. Confocal and conventional immunofluorescence and ultrastructural localization of intracellular strength-giving components of human amniochorion. *J Anatomy* 1993;183:483-505.
 26. McMaster M, Librach C, Zhou Y, Lim K, Janartour M, De Mars R, et al. Human placental HLA-G expression is restricted to differentiated cytotrophoblast. *J Immunol* 1995;154:3771-3778.
 27. Germain A, Smith J, MacDonald P, Casey M. Human fetal membrane contribution to the prevention of parturition: Uterotonin degradation. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:463-470.
 28. Castejón O. La superficie de separación placentaria. *Rev Obstet Ginecol Venez* 2001;61(2):95-100.
 29. Castejón O, Belouche R, De Castejón. Filamentos citoplasmáticos y secreción celular en células fibroblásticas-x de la placa basal de la placenta humana a término. *Gac Méd Caracas* 1997;105:520-524.
 30. Casey M, MacDonald P. Interstitial collagen-synthesis and processing in human amnion a property of the mesenchymal cells. *Biol Reprod* 1996;55:1253-1260.
 31. Aplin J, Campbell S, Donnai P, Bard J, Allen T. Importance of vitamin C in maintenance of the normal amnion: An experimental study. *Placenta* 1986;7:377-389.
 32. Lin C, Bissell J. Multi-faceted regulation of cell differentiation by extracellular matrix. *FASEB J* 1993;7:727-743.
 33. Lonsdale L, Elder M Sullivan M. A comparison of cytokine and hormone production by decidual cells and tissue explants. *J Endocrinol* 1996;151:309-313.
 34. Lawn A, Wilson E, Finn C. The ultrastructure of human decidual and predecidual cells. *J Reprod Fertil* 1971;26:85-90.
 35. Bulmer J, Johnson P. Macrophage population in the human placenta and amniochorion. *Clin Exp Immunol* 1984;57:393-403.
 36. Vince G, Starkey P, Jackson M, Sargent I, Redman C. Flow cytometric characterization of the cell population in the human pregnancy decidual and isolation of decidual macrophages. *J Immunol Meth* 1990;132:181-189.
 37. Handwerker S, Richards R, Markoff E. Autocrine/paracrine regulation of prolactin release from human decidual cells. *Ann New York Acad Sci* 1991;622:111-119.
 38. Kusalus L, Herr J. Immunocytochemical localization of heparan sulfate proteoglycan in human decidual cell secretory bodies and placental fibrinoid. *Biol Reprod* 1988;39:419-430.
 39. Le Baron G, Hook A, Esko J, Gay S, Hook M. Binding of heparan sulfate to type y collagen. *J Biol Chem* 1989;264:7950-7956.
 40. Scott J. Dermatan Sulphate-the molecule that never was. *Biochem* 1994;April/May:32-34.
 41. Iwahashi M, Muragaki Y, Ooshima A, Nakano R. Decreased type IV collagen expression by human decidual tissue in spontaneous abortion. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;81:2925-2929.
 42. Lavery J, Miller C. Deformation of creep in the human amniochorion sac. *Am J Obstet Gynecol* 1979;134:366-375.
 43. Verbeck J, Robertson E, Haust M. Basement membranes (amniotic, trophoblastic, capillary) and adjacent tissue in term placenta. *Am J Obstet Gynecol* 1967;99:1136-1146.
 44. King B. Development changes in fine structure of rhesus monkey amnion. *Am J Anatomy* 1980;157:285-307.
 45. Hieber A, Corcino D, Motosue J, Sandberg I, Roos P, Yu S, et al. The detection of elastin in the human fetal membranes: Proposed molecular basis for elasticity. *Placenta* 1997;18:301-312.
 46. Kagan H, Trackman P. Properties and function of lysyl oxidase. *Am J Respirat Cell and Mol Biol* 1991;3:206-210.
 47. Maddox B, Sakai L, Keene D, Glanville R. Connective tissue microfibrils. *J Biol Chem* 1989;264:21381-21385.
 48. Keene D, Maddox B, Kuo H, Sakai L, Glanville R. Extraction and extendable beaded structures and their identification as fibrillin-containing extracellular matrix microfibrils. *J Histochem Cytochem* 1991;39:441-449.
 49. Jacobson S, Kimberly D, Thornburg K, Maslen C. Localization of fibrillin-1 in the human term placenta. *J Soc Gynecol Invest* 1995;2:686-690.
 50. Danforth D, Buckingham J, Roddick J. Connective tissue changes incident to cervical effacement. *Am J Obstet Gynecol* 1960;80:939-944.
 51. Leppert P, Yu S. Three-dimensional structures of uterine elastic fibers: Scanning electron microscopic studies. *Conn Tissue Res* 1991;27:15-31.
 52. Pinnell S, Martin J. The cross-linking of collagen and elastin: Enzymic conversion of lysine in peptide linkage to á-amino adipic-gamma-semialdehyde (allysine) by an extract of bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1968;61:708-716.
 53. Casey M, MacDonald P. Lysyl oxidase (ras recision gene) expression in human amnion: Otogeny and cellular localization. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:167-172.
 54. Kim Y, Boyd C, Csiszar K. A new gene with sequence and structural similarity to the gene encoding human lysyl oxidase. *J Biol Chem* 1995;270:7176-7182.
 55. Feinberg R, Kliman H, Lockwood C. Is oncofetal

- fibronectin a trophoblast glue for human implantation? *Am J Pathol* 1991;138:537-543.
56. Lockwood C, Senyei A, Dische M, Casal D, Shak K, Thung S, et al. Fetal fibronectin in cervical and vaginal secretion as a predictor of preterm delivery. *N Engl J Med* 1991;325:996-674.
 57. Malak T, Bell S. Differential expression of the integrin subunits in human fetal membranes. *J Reprod Fertil* 1994;102:269-276.
 58. Casey M, MacDonald P. Biomolecular process in the initiation of parturition: Decidual activation. *Clin Obstet Gynecol* 1988;31:533-552.
 59. Lockwood C, Moscarelli R, Wein R, Lynch L, Lapinski R, Ghindini A. Low concentrations of vagina fibronectin as a predictor of deliveries occurring after 41 weeks. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:1-4.
 60. Feinberg R, Kliman H. Fetal fibronectin and preterm labour. *N Engl J Med* 1992;326:708.
 61. Monzon-Bordanaba F, Wang C, Feinberg R. Fibronectinase activity in cultured human trophoblasts is mediated by urokinase-type plasminogen activator. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:58-65.
 62. Bittar R, Yamasaki A, Sasaki S, Zugaib M. Cervical fetal fibronectin in patients at increased risk for preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:178-181.
 63. Werb Z, Tremble P, Behrendtsen O, Crowley E, Damsky C. Signal transduction through the fibronectin receptor induces collagenase and stromelysin gene expression. *J Cell Biol* 1989;109:877-889.
 64. Alitalo K, Kurkinen M, Vahen A, Krieg T, Timpl R. Extracellular matrix components synthesized by human amniotic epithelial cells in culture. *Cell* 1980;19:1053-1061.
 65. Champlaud M, Lunstrum G, Rouselle P, Nishiyama T, Keene D, Burgeson R. Human amnion contains a novel laminin variant, laminin 7, which like laminin 6, covalently associates with laminin 5 to promote stable epithelial-stromat attachment. *J Cell Biol* 1996;132:1189-1198.
 66. Charpin C, Kopp F, Pourreau N, Lissitzky J, Lavant M, Martin P, et al. Laminin distribution in human decidua and immature placenta. *Am J Obstet Gynecol* 1985;151:822-826.
 67. Church H, Vicovae I, Williams J, Hey D, Aplin J. Laminins 2 and 4 are expressed by human decidual cells. *Lab Invest* 1996;74:21-32.
 68. Lysiak J, Hunt J, Pringle G, Lala P. Localization of TGF α and a natural inhibitor decorin in the human placenta and decidua throughout gestation. *Placenta* 1995;16:221-231.
 69. Birkedal-Hansen H, Moore W, Bodden M, Windsor L, Birkedal-Hansen B, De Carlo A, et al. Matrix metalloproteinases: A review. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993;4:197-250.
 70. Sato H, Takino T, Okada Y, Cao J, Shinagawa A, Yamamoto E, et al. A matrix metalloproteinase expressed on the surface of invasive tumor cells. *Nature* 1994;370:61-65.
 71. Takino T, Sato H, Shinagawa A, Seiki M. Identification of a second membrane-type matrix metalloproteinase (MT-MMP-2) gene from a human placental cDNA library. *J Biol Chem* 1995;270:23013-23020.
 72. Hutboy D, Rudolph L, Matrisian L. Matrix metalloproteinases as mediators of reproductive function. *Mol Human Reprod* 1997;3:27-45.
 73. Vettrano L, Roby J, Tolley T, Parks W. Collagenase-1, stromelysin-1, and matrilysin are expressed within the placenta during multiple stages of human pregnancy. *Placenta* 1996;17:557-563.
 74. Qin X, Garibay-Tupas J, Chua P, Cachola L, Bryant-Greenwood G. An autocrine/paracrine role of human decidual relaxin I. Interstitial collagenase (MMP-1) and tissue plasminogen activator. *Biol Reprod* 1997;56:800-811.
 75. Qin X, Chua P, Ohira R, Bryant-Greenwood G. An autocrine/paracrine of human decidual relaxin II. Stromelysin (MMP-3) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 (TIMP-1). *Biol Reprod* 1997;56:812-820.
 76. Rowe T, King L, MacDonald P, Casey M. Tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) -1 and -2 expression in human amnion mesenchymal and epithelial cells. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:915-921.
 77. Bryant-Greenwood G, Yamamoto S. Control of perinatal collagenolysis in the human chorio decidua. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:63-70.
 78. Vellido-Ortega F, Hernández A, González-Avila G, Bermejo L, Iwata K, Strauss J. Increased matrix metalloproteinase activity and reduced tissue inhibitor of metalloproteinase-1 levels in amniotic fluids from pregnancies complicated by premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:1371-1376.
 79. So T, Ito A, Sato T, Mori Y, Hirakawa S. Tumor necrosis factor and stimulates the biosynthesis of matrix metalloproteinases and plasminogen activator in cultured human chorion cells. *Biol Reprod* 1992;46:772-778.
 80. Romero R, Mazar M. Infection and preterm labor. *Clin Obstet Gynecol* 1988;31:553-588.
 81. Bryant-Greenwood G, Scwabe C. Human relaxins: Chemistry and biology. *Endo Rev* 1994;15:5-26.
 82. Bogic L, Mandel M, Bryant-Greenwood G. Relaxin gene expression in human reproductive tissue by in situ hybridization. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:130-137.
 83. Garibay-Tupas J, Maaskant R, Greenwood F, Bryant-Greenwood G. Characteristics of the binding 32p-labelled human relaxins to the human fetal membranes. *J Endocrinol* 1995;145:441-448.
 84. Petersen I, Helmig R, Oxlund H, Vogel I, Uldjerg N. Relaxin induced weakening of human fetal membranes in vitro. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1994;57:123-128.

85. Juliano R, Haskill S. Signal transduction from the extracellular matrix. *J Cell Biol* 1993;120:577-583.
86. Roskelley C, Srebrow A, Bissell M. A hierarchy of ECM-mediated signalling regulates tissue-specific gene expression. *Curr Opin Cell Biol* 1995;7:736-747.
87. Gronowicz G, MacCarthy M. Glucocorticoids inhibit the attachment of osteoblasts to bone extracellular matrix proteins and decrease α -integrins levels. *Endocrinol* 1995;136:598-608.
88. Frisch S, Francis H. Disruption of epithelial cell-matrix interaction induces apoptosis. *J Cell Biol* 1994;124:619-626.
89. Lei H, Furth E, Kalluri R, Chiou T, Tilly K, Tilly J, et al. A program of cell-death and extracellular matrix degradation is activated in the amnion before de onset of labor. *J Clin Invest* 1996;98:1971-1978.
90. Draper D, McGregor J, Hall J, Jones W, Beutz M, Heine R, et al. Elevated protease activities in human amnion and chorion correlate with preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1506-1512.
91. Oxlund H, Helmig R, Halaburt J, Uldjerg N. Biomechanical analysis of human chorioamniotic membranes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1990;34:247-255.

Correspondencia a: Dr. Eduardo Reyna. Hospital Central "Dr. Urquinaona". Final Av. El Milagro. Maracaibo, Estado Zulia. Venezuela
Teléfono: 0414-6190537.
E-mail: sippenbauch@medscape.com