

Rola cytokin w rozwoju i utrzymaniu ciąży

LESZEK KRAKOWSKI, KRZYSZTOF KOSTRO*, IZABELA KRAKOWSKA**, ZYGMUNT WRONA

Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

*Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych, **Katedra Anatomii Zwierząt
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Akademicka 12, 20-612 Lublin

Krakowski L., Kostro K., Krakowska I., Wrona Z.

Immunomodulatory role of cytokines in animal reproduction

Summary

Studies on the relationships of cytokines with a period of pre- and post-embryo implantation and their role in the development and maintenance of placenta and for the pathology of abortions have provided new and valuable data on the mechanisms of immune regulation of reproduction. Currently cytokines are regarded as a primary factor of communication between the cells of the uterus and the developing embryo. Various agents participate in the production of cytokines, including ovarian steroid hormones, semen plasma, bioactive lipids and proteins produced in the uterus. Therefore cytokines play a key role not only in the local immune response but also in the reconstruction of the uterus necessary for adaptation of the developing embryo.

Keywords: cytokines, uterus, embryo, immunoregulation

Macica ssaków jest niezwykłą tkanką pod względem zdolności do przechodzenia powtarzających się cykli, począwszy od gwałtownego wzrostu i regresji, kończąc na utrzymaniu i odżywianiu płodu, który jest specyficznym przeszczepem semi-allogenicznym. W tych procesach zasadniczą rolę pełnią cytokiny produkowane i uwalniane przez różne typy aktywowanych komórek układu immunologicznego oraz komórki nabłonkowe i fibroblasty. Działanie cytokin zależy głównie od stopnia ekspresji odpowiednich receptorów na komórkach ich działania docelowego (target cells), a także od obecności rozpuszczalnych receptorów blokujących interakcje cytokin z receptorami komórek docelowych (11).

Macica jako miejsce produkcji cytokin

Komórki nabłonka macicy są miejscem produkcji cytokin, która jest integralną częścią macicznej odpowiedzi immunologicznej na płód. Poznanie miejsc syntezy cytokin oraz lokalizacji swoistych dla nich receptorów w obrębie macicy umożliwiło lepsze zrozumienie zależności między rozwijającym się płodem a mikrośrodowiskiem matki, a także dostarczyło nowych danych dotyczących mechanizmów, za pomocą których zarodek może bronić się przed mechanizmami macicznego, immunologicznego odrzucenia (42). Cytokiny uwalniane przez komórki nabłonka macicy są czynnikiem regulującym rekrutację i stan czynnościowy poszczególnych populacji leukocytów pochodzenia szpikowego oraz wydzielanie określonego typu cytokin w okresie rui oraz ciąży. Cytokiny, wywierając efekt biologiczny na różne linie komórkowe macicy za pomocą swoistych receptorów, warunkują ich wzajemne oddziaływanie, a tym samym biorą udział w stabilizowaniu krótkiego okresu macicznej wrażliwości, od której zależy pomyślna implantacja zarodka (34, 36). Zdolność regulacji wytwarzania cyto-

kin przez hormony sterydowe uwalniane przez jajniki, specyficzne czynniki zawarte w plazmie nasienia, bioaktywne lipidy i proteiny produkowane przez komórki macicy stawiają je w szeregu głównych czynników ochronnych zarówno w miejscowych procesach odpornościowych układu rozrodczego, jak i w samej przebudowie macicy koniecznej do adaptacji rozwijającego się zarodka (33).

Rola cytokin w okresie wczesnej ciąży

W okresie wczesnej ciąży środowisko macicy wywiera zasadniczy wpływ na jej dalszy przebieg. Pomyślna implantacja i wytworzenie łożyska są ściśle uzależnione od zdolności rozwoju endometrium w stanie „wrażliwym”. Wrażliwość ta jest kulminacją serii komórkowych procesów przebudowy tkanek macicznych nadzorowanych przez jajnikowe hormony sterydowe oraz nasienie. Zaburzona funkcja hormonów sterydowych jest przyczyną obniżonej wrażliwości macicznej, której następstwem jest niska przeżywalność zarodka (32).

Prawidłowy rozwój ciąży zapewnia stała równowaga pomiędzy mechanizmami indukującymi i hamującymi sygnały dostarczane przez lokalną sieć cytokin. Wszelkie czynniki zakłócające tę równowagę mogą być przyczyną utraty ciąży (29). Wprowadzone podczas krycia nasienie zapoczątkowuje kaskadę reakcji prowadzących do odpowiedzi na obecne w nasieniu specyficzne czynniki wytworzeniem stanu wrażliwego macicy (33, 34). W zapalnej odpowiedzi na plazmę nasienia, intensywne infiltracja leukocytów jest punktem krytycznym w ustaleniu, która populacja tych komórek odgrywa centralną rolę w niezbędnym dla utrzymania zarodka procesie przebudowy endometrium (1, 33, 34). Przebudowa ta polega przede wszystkim na proliferacji i różnicowaniu się komórek nabłonkowych i zrębowych oraz intensywnej in-

filtracji leukocytów w miejsce przyszłej implantacji zarodka. Te złożone procesy są regulowane przez miejscowo wytwarzane czynniki wzrostu, łącznie z cytokinami limfopoetycznymi. Konsekwencją wyjątkowej lokalizacji komórek leukocytarnych oraz ich zdolności wydzielania w okresie wczesnej ciąży różnorodnych cytokin jest postrzeganie nabłonka macicznego jako głównego pośrednika w przekazywaniu informacji pomiędzy somatycznymi tkankami macicznymi, leukocytami a rozwijającym się zarodkiem (35). Sieć cytokinowa w okresie przedimplantacyjnym i po implantacji zarodka wywiera zasadniczy wpływ na wzrost i rozwój łożyska oraz płodu (34). Poprzez regulację wzrostu i dojrzewania komórek, a także ich aktywację, proliferację i różnicowanie, cytokiny wywierają zasadniczy wpływ na intensywność i czas trwania odpowiedzi immunologicznej, a tym samym na rozwój i przebieg wczesnej ciąży (36).

Uruchomiona we wczesnym okresie ciąży pod wpływem działania cytokin zwiększona synteza białek ostrej fazy (bof) odgrywa znaczącą rolę w przebudowie endometrium macicy. Białkiem ostrej fazy u bydła odgrywającym istotną rolę w procesach rozrodczych jest haptoglobina (Hp) (2). Jajniki, jajowody oraz endometrium macicy krowy syntetyzują Hp już w okresie przedowulacyjnym, a sekrecja tego białka jest regulowana prawdopodobnie przez hormony odpowiedzialne za przebieg cyklu jajnikowego. Obecność Hp w jajowodach i macicy oraz jej multifunkcyjność w procesach przebudowy endometrium kreuje w drogach rodnych optymalne warunki do zapłodnienia i rozwoju wczesnej ciąży u bydła. Ponadto wzajemna integracja Hp z układem cytokinowym zapewnia swoisty kompromis immunologiczny pomiędzy matką a rozwijającym się płodem.

Synteza cytokin w macicy i płodzie

Poznanie roli macicy i łożyska jako potencjalnych źródeł aktywności hemopoetycznej i cytokinopodobnej stało się impulsem do podjęcia badań w celu ustalenia miejsca syntezy cytokin oraz ich roli w układzie rozrodczym. Ścisłe powiązanie funkcji cytokin z okresem przed- i poimplantacyjnym zarodka, a także ich udział w rozwoju i utrzymaniu łożyska jest przydatnym markerem w monitorowaniu przebiegu ciąży i okresu poporodowego.

Interleukina 1 (IL-1) jest wytwarzana głównie przez monocyty, makrofagi tkankowe i komórki śródbłonna naczyń (39). Obecność swoistego mRNA dla IL-1 stwierdzono również w makrofagach i komórkach mysiego oraz ludzkiego endometrium, którego ekspresja regulowana jest prawdopodobnie przez hormony sterydowe. Cytokina ta jest wydzielana także przez zarodek w okresie przedimplantacyjnym. Obecność IL-1 wykazano również w łożysku oraz płynie owodniowym (16, 37).

Działanie efektorowe IL-1 odbywa się za pośrednictwem dwu rodzajów receptorów, z których jeden znajduje się na większości komórek odpowiadających na IL-1, drugi zaś głównie na neutrofilach, monocytach i limfocytach B. IL-1 stanowi niezbędny dodatkowy sygnał w procesie prezentacji antygeny limfocytom T. Jest ona także silnym czynnikiem chemotaktycznym dla neutrofilów i monocytów oraz wzmacnia wytwarzanie prostaglan-

dyn. Wytwarzana przez komórki śródbłonna naczyń IL-1 aktywuje miejscową ekspresję wielu genów kodujących czynniki wzrostowe i inne cytokiny, zapoczątkowując w ten sposób kaskadę miejscowych procesów zapalnych.

Interleukina 2 (IL-2) jest glikoproteiną o masie cząsteczkowej 15-20 kDa, uwalnianą głównie przez limfocyty T pomocnicze, szczególnie Th1. W badaniach wykonanych na macicy człowieka wykazano, że łożyskowe komórki owodniowe i syncytiotrofoblast są źródłem syntezy mRNA dla IL-2 (6). Cytokina ta stymuluje wzrost, różnicowanie i proliferację przede wszystkim limfocytów T oraz wzmacnia aktywność i proliferację komórek NK i makrofagów. Jej działanie efektorowe odbywa się za pośrednictwem trzech form swoistych receptorów zbudowanych z trzech różnych łańcuchów, tj. α , β i γ . Nadmierna bioaktywność IL-2 w okresie wczesnej ciąży jest jedną z przyczyn resorpcji płodu (40).

Interleukina 3 (IL-3) jest glikoproteiną o masie 14-30 kDa, produkowaną głównie przez aktywowane limfocyty T. Odnośnie do syntezy IL-3 w drogach rodnych oraz roli, jaką odgrywa ona w procesach rozrodczych istnieją pewne rozbieżności. Nie stwierdzono tej cytokiny w homogenizatach oraz w hodowlach komórek macicy pobranych zarówno w okresie fazy estrus, jak i wczesnej ciąży (34). Ostatnio wykryto wysoki poziom IL-3 w hodowlach komórkowych 6-dniowego mysiego płodu (22). Do głównych jej funkcji należy stymulacja i różnicowanie multipotencjalnych komórek macierzystych szpiku, regulacja przylegania i migracji monocytów i makrofagów oraz ekspresji cząsteczek zgodności tkankowej MHC klasy II.

Interleukina 4 (IL-4) jest glikoproteiną o masie 19 kDa, produkowaną przez pobudzone antygenem lub mitogenem limfocyty pomocnicze Th2 i komórki tuczne. Badania wykazały, że w macicy ludzkiej immunoreaktywność IL-4 w czasie ciąży lokalizuje się w blaszce podstawnej owodniowych komórek nabłonkowych. Obecność IL-4 odnotowano także w ludzkim trofoblaście, związaną z syncytiotrofoblastem, jak i cytotrofoblastem (15). Do głównych funkcji IL-4 należy aktywacja i pobudzenie proliferacji limfocytów B, wzmacnianie ekspresji antygenów MHC klasy I i II na powierzchni limfocytów B. Ponadto IL-4 wspólnie z IL-10 hamując wydzielanie IFN- γ przez limfocyty Th1, wywiera inhibicyjny wpływ na odpowiedź immunologiczną typu komórkowego. IL-4 wywiera supresyjny wpływ na wytwarzanie niektórych mediatorów zapalenia, a zwłaszcza prostaglandyny PGE2 (28).

Interleukina 5 (IL-5) jest dimerem o masie 40-50 kDa, wytwarzanym przez limfocyty Th2. W mysiej macicy immunoaktywność tej cytokiny wykryto w stosunkowo wysokich stężeniach w supernatantach mysich komórek doczesnowych. Wspólnie z IL-3 pełni ona rolę hemopoetycznego czynnika wzrostu i różnicowania limfocytów B, limfocytów T cytotoksycznych, bazofilów i eozynofiliów (10).

Interleukina 6 (IL-6) jest jednym z głównych mediatorów zapalenia. Głównym źródłem syntezy IL-6 w układzie rozrodczym są komórki nabłonka macicy (13, 20). Jest ona także syntetyzowana przez komórki zrębowe, a jej produkcja wzrasta pod wpływem IL-1 i czynników

wydzielanych przez komórki nabłonkowe. Stwierdzono także syntezę IL-6 przez płody różnych gatunków zwierząt. Mysie, świńskie, owcze i bydłowe embriony przedimplantacyjne powodują ekspresję mRNA IL-6, zaś komórki ludzkiego trofoblastu łożyskowego syntetyzują IL-6 pod wpływem działania IL-1 i TNF- α . Na komórki docelowe oddziałuje IL-6 poprzez swoiste receptory, które nie reagują krzyżowo z innymi cytokinami. Receptory te są zlokalizowane na komórkach odpowiedzi immunologicznej, hepatocytach i fibroblastach. IL-6 indukuje wydzielanie czynnika uwalniającego kortykotropinę (CRF) i hormonu adrenokortykotropowego (ACTH), a w konsekwencji glikokortykosteroidów. Uczestniczy ona w procesach przebudowy endometrium oraz jest mechanizmem regulującym aktywność leukocytów zlokalizowanych w macicy. IL-6 jest głównym induktorem syntezy większości białek ostrej fazy oraz procesu ich glikozylacji w wątrobie (25).

Interleukina 10 (IL-10) jest produkowana głównie przez aktywowane antygenem lub mitogenem limfocyty pomocnicze Th2. W macicy mysiej komórki doczesne pobrane w 12. dniu ciąży są źródłem syntezy IL-10. Istnieją także doniesienia, że trofoblast kosmkowy z ludzkiego łożyska powoduje ekspresję IL-10 (26).

IL-10 hamuje przede wszystkim syntezę cytokin uwalnianych przez limfocyty Th1 oraz monocyty i makrofagi. Jako czynnik inaktywujący makrofagi IL-10 hamuje wytwarzanie przez te komórki cytokin indukujących procesy zapalne poprzez zmniejszenie produkcji mRNA dla tych cytokin. IL-10 zmniejsza ekspresję antygenów MHC klasy II na powierzchni makrofagów, a efektem tego jest zmniejszenie liczby komórek zaangażowanych w proces prezentacji antygeny. IL-10 hamuje również produkcję reaktywnych form tlenu i azotu (NO) przez aktywowane IFN- γ makrofagi.

Interleukina 12 (IL-12) jest heterodimerem zbudowanym z dwóch glikoprotein (p35 i p40) połączonych wiązaniem dwusiarczczkowym o masie około 70 kDa. Produkowana jest przez makrofagi i komórki dendrytyczne oraz aktywowane keratynocyty, granulocyty i komórki tuczne (23). IL-12 wywiera działanie na komórki posiadające swoisty receptor błonowy IL-12R, zbudowany z dwóch podjednostek glikoproteinowych: IL-12R β 1 o masie 100 kDa oraz IL-12R β 2 o masie 130 kDa. Cytokina ta odgrywa kluczową rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej zarówno w fazie indukcji, jak i fazy efektorowej. Równowaga pomiędzy IL-12 i IL-10 odgrywa zasadniczą rolę w syntezie i uwalnianiu IFN- γ przez komórki Th1 i determinuje charakter odpowiedzi immunologicznej w infekcjach. Rola IL-12 w procesach rozrodczych jest mało poznana, chociaż uważa się, że spełnia ona ważną funkcję w okresie przedimplantacyjnym zarodka (43).

Czynnik stymulujący powstawanie kolonii CSF-1 (Colony-Stimulating-Factor 1) jest homodimeryczną glikoproteiną o masie 45-70 kDa, produkowaną m.in. przez komórki śródbłonka naczyń krwionośnych oraz komórki nabłonka macicy. Daiter i Pollard (12) wykazali, że u myszy ciężarnych aktywność macicznego CSF-1 wzrasta już od 5. dnia i utrzymuje się na wysokim poziomie

przez cały okres trwania ciąży. Wysoką aktywność CSF-1 stwierdzono także w łożysku i płynie owodniowym. Podanie ludzkiej kosmówkowej gonadotropiny (hCG) myszom w cyklu rujowym, u których nie przeprowadzono ovariectomii powodowało wzrost poziomu CSF-1 podobnego do tego, jaki występuje w ciąży. Fakt ten wskazuje na regulacyjną rolę jajnikowych hormonów sterydowych w produkcji tej cytokiny (5).

Czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor) jest heterogeniczną glikoproteiną o masie 23-29 kDa, produkowaną przez komórki nabłonka macicy. Wydzielanie GM-CSF przez komórki nabłonkowe, w odróżnieniu od czynnika CSF-1, jest regulowane głównie przez estrogeny i progesteron. GM-CSF pełni rolę promotora różnicowania się monocytów krwi obwodowej w dojrzałe makrofagi tkankowe oraz dojrzewania komórek prezentujących antygen (4). W okresie ciąży GM-CSF pobudza makrofagi do syntezy cząsteczek „immunosupresyjnych”, do których należy m.in. inhibitor interleukiny 1 (IL-1). Inhibitor ten w wyniku związania się z receptorem dla IL-1 hamuje aktywność lokalnych limfocytów T oraz prostaglandyny PGE₂, która, interferując z IL-2 zależną sekwencją czynnościową, hamuje populację cytotoksycznych limfocytów Tc.

Czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów G-CSF (Granulocyte Colony-Stimulating Factor) jest cytokiną o masie 20 kDa, posiadającą zdolność selektywnego stymulowania hemopoezy granulocytów. Jest ona syntetyzowana przez makrofagi, monocyty, komórki pnia, limfocyty B, komórki śródbłonkowe i fibroblasty. W ludzkiej macicy G-CSF jest produkowany przez maczynę tkanki doczesnowe oraz płodowe kosmki kosmówkowe w pierwszym trymestrze ciąży oraz w okresie zbliżającego się porodu (38).

Czynnik komórek macierzystych SCF (Stem Cell Factor), zwany również ligandem receptora Kit-KL, jest glikoproteiną o masie 40 kDa, która pełni rolę głównego czynnika hemopoetycznego we wczesnych stadiach limfopoezy. SCF występuje w dwóch formach: związanej z błoną i rozpuszczalnej. Obydwie formy SCF zostały wykryte w macicy myszy zarówno w okresie przedimplantacyjnym, jaki i w dalszym przebiegu ciąży na terenie doczesnej, gdzie komórki śródbłonkowe obejmują nowo uformowane naczynia, a także w trofoblaście i łożysku (3).

Czynnik martwicy nowotworu TNF- α (Tumor Necrosis Factor) jest homotrimeryczną molekułą złożoną z 17 kDa podjednostek, o silnym działaniu cytotoksycznym. TNF- α jest jedną z głównych cytokin odpowiedzi zapalnej i immunologicznej. Ekspresję TNF- α stwierdzono w łożysku, komórkach trofoblastu, późnych komórkach olbrzymich i komórkach zrębowych. Obecność TNF- α stwierdzono także w ludzkim płynie owodniowym oraz w supernatantach z tkanek łożyskowych i doczesnowych (8). Zmieniający się profil syntezy TNF- α w czasie ciąży w porównaniu z samicami nieciążnymi może odzwierciedlać zróżnicowaną regulację syntezy przez różne, obecne w macicy linie komórkowe. Dla przykładu: synteza TNF- α w komórkach nabłonka macicy ludzkiej jest estrogenowo zależna, podczas gdy ekspres-

ja w komórkach zrębowych następuje pod wpływem progesteronu (17).

W procesach rozrodczych działanie TNF- α zaczyna się już w cyklu rujowym i jest dwukierunkowe. We wczesnej fazie pęcherzykowej może prowadzić do atrezji pęcherzyka jajnikowego, natomiast we wczesnej fazie lutealnej jest czynnikiem luteotropowym, a w późnej luteolitycznym (27). Hunt (17) przeprowadzając badania u szczurów i myszy wykazał, że w wyniku implantacji ekspresja TNF- α wzrasta najpierw w macicznych komórkach nabłonkowych, a dopiero później w pierwotnej doczesnej.

Podwyższony w czasie ciąży poziom cytokin prozapalnych, a w szczególności TNF- α wydzielanych przez aktywowane maciczno-łożyskowe makrofagi może prowadzić do zniszczenia łożyska i w konsekwencji do utraty ciąży. Istnieją jednak mechanizmy regulujące produkcję TNF- α . Pierwszym z nich jest trofoblast płodowy powodujący ekspresję specyficznego, o niskim powinowactwie receptora dla powiązanych z Th-1 cytokin, takich jak: TNF- α , INF- γ i GM-CSF. Powoduje to wybór odpowiedzi Th-2 na linii oddzielającej matkę od płodu. W owodni występują fetuina i spermina, które hamując produkcję TNF- α regulują w ten sposób odpowiedź immunologiczną. Także niektóre cytokiny, takie jak IL-10 i TGF- β hamują aktywację makrofagów poprzez niższą ekspresję antygeny MHC klasy II, co zmniejsza produkcję TNF, zapewniając w ten sposób kompromis immunologiczny w czasie ciąży (18).

Transformujący czynnik wzrostu TGF (Transforming Growth Factor) jest wieloczynnościową cytokiną, występującą w 3 formach: β 1, β 2 i β 3. Jego głównym miejscem syntezy są płytki krwi, makrofagi, neutrofile i limfocyty. W macicy gryzoni mRNA TGF- β 1 powiązana jest głównie z nabłonkiem światła, a w czasie wczesnej ciąży w mniejszym stopniu z nabłonkiem gruczołowym. Po implantacji ekspresja TGF- β 1 na przestrzeni doczesnej występuje w sposób rozproszony (8). Dodatkowym źródłem syntezy tej cytokiny są również komórki trofoblastu. TGF- β posiada zarówno silne bezpośrednie działanie prozapalne, jak i wywiera ogólnoustrojowy efekt immunosupresyjny. Znaczny wzrost poziomu TGF- β w prawidłowym przebiegu ciąży zapobiega jej utracie. Czynnikiem o silnych właściwościach immunosupresyjnych, podobnym pod względem struktury i bioaktywności do TGF- β 1, jest doczesnowy czynnik supresorowy DSF (Decidual Suppressor Factor) (9). Czynnikiem ten hamuje wytwarzanie i funkcjonowanie efektorowe cytotoksycznych limfocytów T oraz komórek NK i LAK. Niedobór czynnika DSF powoduje ronięcia.

Czynnik hamujący białaczkę LIF (Leukemia Inhibiting Factor) jest glikoproteiną o masie 38-67 kDa. W zależności od celu komórkowego LIF może działać stymulująco zarówno na proliferację, jak i różnicowanie szpikowych komórek białaczkowych. W macicy gryzoni, badania z hybrydyzacją *in situ* wykazały, że od 4. dnia ciąży w nabłonku gruczołowym oraz w mniejszym stopniu w nabłonku jamy macicy następuje przejściowy wyrzut ekspresji mRNA LIF, zbiegający się z rozpoczęciem implantacji. Progesteron i estrogeny regulują syntezę LIF,

działając synergistycznie podczas zagnieżdżania się zarodka. Myszy genetycznie pozbawione LIF są potencjalnie płodne, jednakże ich blastocysty nie mogą ulec implantacji lub nie mogą się rozwijać bez podania egzogenego LIF. Sposób, w jaki LIF indukuje implantację, nie jest do końca w pełni wyjaśniony (31).

Pozostałe czynniki wzrostu. Do tych czynników należą: czynnik wzrostu naskórka EGF (Epidermal Growth Factor), insulinopodobny czynnik wzrostu IGF-1 (Insulin-Like Growth Factor-1) oraz transformujący czynnik wzrostu TGF- α (7). Zaangażowane one są w autokrynną i parakrynną regulację wzrostu i różnicowania w tkankach, a miejscem ich syntezy jest macica. W każdym jednak przypadku sterydowe hormony jajnikowe w zależności od fazy cyklu lub ciąży regulują syntezę tych czynników w komórkach (30). Role funkcjonalne czynników wzrostu zarówno we wroście, jak i rozwoju macicy oraz płodu opierają się na lokalizacji ich receptorów w macicy i ich wpływu na funkcje leukocytów macicznych. Za pośrednictwem estrogenów dochodzi do indukcji syntezy EGF, IGF-1 i TGF- α w macicy przez nabłonek światła oraz nabłonek gruczołowy, natomiast pod wpływem progesteronu bądź wspólnie razem z estrogenami dochodzi do syntezy tych czynników w komórkach zrębowych macicy (14). Odkrycie miejsca syntezy wyżej wymienionych czynników wzrostu wskazuje na zasadniczą ich rolę w procesie implantacji zarodka.

Interferon tau (IFN- τ) jest pierwszym białkiem trofoblastu uwalnianym w okresie implantacji zarodka (24). Pojawia się on między 15. a 24. dniem ciąży u bydła, 12.-22. u owiec i 15.-21. u kóz. Oddziaływanie IFN- τ następuje po uprzednim jego związaniu się ze swoistym białkowym receptorem komórkowym w błonie komórek endometrium wspólnym dla interferonów typu I (21). Mechanizm antyluteolitycznego działania IFN- τ polega na zmianie ekspresji genów odpowiedzialnych za syntezę i wydzielanie prostaglandyn. IFN- τ , działając parakrynnie na komórki endometrium, hamuje ekspresję receptorów oksytocynowych i pulsacyjne uwalnianie prostaglandyny $F_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$). Efektem tego działania jest zmiana profilu produkcji prostaglandyn z PGF $_{2\alpha}$ na korzyść PGE $_2$ będącej inhibitorem luteolizy w komórkach nabłonka błony śluzowej macicy. Pod wpływem działania IFN- τ dochodzi również do zmiany metabolizmu lipidowego oraz przebiegu wewnątrzkomórkowych szlaków regulacyjnych w komórkach endometrium (41). Stąd też u samicy we wczesnym okresie ciąży obniża się stężenie kwasu arachidonowego do poziomu warunkującego minimalne wydzielanie PGF $_{2\alpha}$. Ponadto IFN- τ indukując w mikrosomach komórek endometrium zwiększoną syntezę kwasu linolenowego (inhibitor prostaglandyn), hamuje konwersję kwasu arachidonowego do PGF $_{2\alpha}$. IFN- τ posiada także właściwości immunomodulacyjne. Wzmagając ekspresję cząsteczek MHC klasy I na komórkach endometrium, uczestniczy on w interakcjach komórkowych związanych z immunologicznym aspektem ciąży (41). IFN- τ stymulując wzrost produkcji IFN- γ i IL-4 wzmagając odpowiedź immunologiczną limfocytów pomocniczych Th. Natomiast aktywując komórki NK pośredniczy on w cytotoksyczności naturalnej. Aktywowane komórki NK

są rekrutowane w ciężarnej macicy i za pośrednictwem receptorów stymulują uwalnianie cytokin, które promują wzrost i różnicowanie płodu.

Interferon typu II (IFN- γ). Mysi i ludzki IFN- γ jest homodimerem złożonym z 2 podjednostek białkowych o masie 15 i 17 kDa, produkowanym przez komórki NK oraz limfocyty T. IFN- γ wykryto także w komórkach cytotrofoblastu ludzkiego łożyska z pierwszego trymestru ciąży.

Funkcje IFN- γ są związane z potencjalną rolą tej cytokiny w miejscu połączenia płód-matka. Odgrywa on główną rolę w regulacji „antygenowości” komórek, poprzez regulację ekspresji cząsteczek MHC klasy I i II na makrofagach oraz liniach komórek niehemopoetycznych. W okresie ciąży jego immunoaktywność związana jest z kosmkowym syncytiotrofoblastem oraz z komórkami gruczołowymi endometrium. Interesujący jest fakt, że poziom mRNA IFN- γ wzrasta w tkankach doczesnych i łożyskowych u myszy CBA/Jx DBA/2 z tendencją do wysokiego współczynnika resorpcji płodowej (40).

Badania nad wielofunkcyjną rolą cytokin w rozwoju i utrzymaniu ciąży, a także w patologii poronień dostarczają wielu nowych i cennych informacji z zakresu immunoregulacji procesów rozrodczych. Mechanizmy oddziaływania cytokin w okresie przedimplantacyjnym i po implantacji posiadają duży regulujący wpływ na wzrost i rozwój łożyska. Również występujące populacje leukocytów są najważniejszymi składnikami uzyskanej równowagi, pozwalającej na komórkową adaptację ciąży. Tak więc cytokiny odgrywają pierwszoplanową rolę nie tylko w miejscowych procesach odpornościowych, ale także w szerokiej przebudowie macicy wymaganej do przystosowania się rozwijającego zarodka.

Piśmiennictwo

- Alexander N. J., Andersonn D. J.: Immunology of semen. *Fertil. Steril.* 1987, 47, 192-199.
- Alsemgeest S. P. M.: Blood concentrations of acute-phase proteins in cattle as markers for disease. Praca doktorska. Utrecht University, Netherlands 1994.
- Arceci R., Pampfer S., Pollard J. W.: Expression of CSF-1/c-fms and SF/c-kit during preimplantation mouse development. *Dev. Biol.* 1992, 151, 1-8.
- Baldwin G. C.: The biology of granulocyte-macrophage colony stimulating factor: effects on hematopoietic and nonhematopoietic cells. *Dev. Biol.* 1992, 151, 352-358.
- Bartocci A., Pollard J. W., Stanley E. R.: Regulation of colony stimulating factor 1 during pregnancy. *J. Exp. Med.* 1986, 164, 956-962.
- Boehm K. D., Kelley M. F., Ilan J.: The interleukin 2 gene is expressed in the syncytiotrophoblast of the human placenta. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1989, 86, 656-663.
- Brigstock D. R., Heap R. B., Brown K. D.: Polypeptide growth factors in uterine tissues and secretions. *J. Reprod. Fertil.* 1989, 85, 747-753.
- Chen H. L., Yang Y. P., Hu X. L., Yelavarthi K. K., Fishback J. L., Hunt J. S.: Tumor necrosis factor- α mRNA and protein are present in human placental and uterine cells at early and late stages of gestation. *Am. J. Pathol.* 1991, 139, 327-333.
- Clark D. A., Flanders K. C., Banwait D., Millar-Brook W., Manuel J., Stedronska-Clark J., Rowley B.: Murine pregnancy decidua produces a unique immunosuppressive molecule related to transforming growth factor- β 2. *J. Immunol.* 1990, 144, 3008-3015.
- Crainie M., Guilbert L., Wegmann T. G.: Expression of novel cytokine transcripts in the murine placenta. *Biol. Reprod.* 1990, 43, 999-1005.
- Croy B. A., Chapeau C.: Evaluation of the pregnancy immunotrophism hypothesis by assessment of the reproductive performance of young adult mice of genotype scid/scid.bg/bg. *J. Reprod. Fertil.* 1990, 88, 231-237.
- Daier E., Pollard J. W.: Colony stimulating factor-1 (CSF-1) in pregnancy. *Reprod. Med. Rev.* 1992, 1, 83-89.
- De M., Sanford T. R., Wood G. M.: Interleukin-1, interleukin-6, and tumor necrosis factor- α are produced in the mouse uterus during the estrus cycle and are induced by estrogen and progesterone. *Dev. Biol.* 1992, 151, 297-303.
- DiAugustine R. P., Petrusz P., Bell G. I., Brown C. F., Korach K. S., McLachlan J. A., Teng C. T.: Influence of estrogens on mouse uterine epidermal growth factor precursor protein and messenger ribonucleic acid. *Endocrinology.* 1988, 122, 2355-2362.
- Haynes M. K., Jackson L. G., Tuan R. S., Shepley K. J., Smith J. B.: Cytokine production in the first trimester chorionic villi: detection of mRNAs and protein products in situ. *Cell. Immunol.* 1993, 151, 300-307.
- Hu X. L., Yang Y., Hunt J. S.: Differential distribution of interleukin-1 α and IL-1 β proteins in human placentas. *J. Reprod. Immunol.* 1992, 22, 257-264.
- Hunt J. S., Chen H. L., Hu X. L., Tabibzadeh S.: Tumor necrosis factor- α messenger ribonucleic acid and protein in human endometrium. *Biol. Reprod.* 1992, 47, 141-147.
- Hunt J. S.: Endocrine regulation of tumor necrosis factor- α . *Reprod. Fertil. Dev.* 1993, 5, 141-148.
- Kushibiki S., Hodate K., Shingu H., Obara Y., Touno E., Shinoda M., Yokomizo Y.: Metabolic and lactational responses during recombinant bovine tumor necrosis factor- α treatment in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 2003, 86, 819-827.
- Lee F. D.: The role of interleukin-6 in development. *Dev. Biol.* 1992, 151, 331-338.
- Li J., Roberts R. M.: Interferon-tau and interferon-alpha interact with the same receptors in bovine endometrium. Use of a readily iodinated form of recombinant interferon-tau for binding studies. *J. Biol. Chem.* 1994, 269, 13544-13550.
- Lin H., Mosmann T. R., Guilbert L., Tuntipopipat S., Wegmann T. G.: Synthesis of T helper 2-type cytokines at the maternal-fetal interface. *J. Immunol.* 1993, 151, 4552-4558.
- Manetti R., Parronchi P., Giudizi M. G., Piccinni M. P., Maggi E., Trinchieri G., Romagnani S.: Natural killer cell stimulatory factor (interleukin-12) induces T helper type 1 (Th1)-specific immune responses and inhibits the development of IL-4 producing Th cells. *J. Exp. Med.* 1993, 177, 1199-1210.
- Martal J. L., Chene L. P., Huynh L. P., Haridon L., Reinaud P. B., Guillomot M. W., Charlier M. A., Charpigny S. Y.: IFN-tau: A novel subtype I IFN 1. Structural characteristics, non-ubiquitous expression, structure-function relationships a pregnancy hormonal embryonic signal and cross-species therapeutic potentialities. *Biochimie.* 1990, 80, 755-777.
- Mathalagan N., Bivby J. A., Roberts R. M.: Expression of interleukin-6 in porcine, ovine, and bovine preimplantation conceptuses. *Mol. Reprod. Dev.* 1992, 32, 324-329.
- Moore K. W., O'Garra A., Waal Malefyt R., Vieira P., Mosmann T. R.: Interleukin-10. *Annu. Rev. Immunol.* 1993, 11, 165-178.
- Murakami S., Miyamoto Y., Skarżyński D. J., Okuda K.: Effects of tumor necrosis factor- α on secretion of prostaglandins E₂ and E α in bovine endometrium throughout the estrus cycle. *Theriogenology.* 2001, 55, 1667-1687.
- Paul W. E.: Interleukin-4: a prototypic immunoregulatory lymphokine. *Blood.* 1991, 77, 1859-1864.
- Petroff M. G., Petroff B. K., Pate J. L.: Mechanisms of cytokine-induced death of cultured bovine luteal cells. *Reprod.* 2001, 121, 753-760.
- Pollard J. W.: Regulation of polypeptide growth factor synthesis and growth factor related gene expression in the rat and mouse uterus before and after implantation. *J. Reprod. Fertil.* 1990, 88, 721-727.
- Rathjen P. D., Toth S., Willis A., Heath J. K., Smith A. G.: Differentiation inhibiting activity is produced in matrix-associated and diffusible forms that are generated by alternate promoter usage. *Cell.* 1990, 62, 1105-1111.
- Reiter Z., Rappaport B.: Dual effects of cytokines in regulation of MHC-unrestricted cell mediated cytotoxicity. *Crit. Rev. Immunol.* 1993, 13, 1-8.
- Robertson S. A., Seamark R. F.: Granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) in the murine reproductive tract: stimulation by seminal factor. *Reprod. Fertil. Dev.* 1990, 2, 359-365.
- Robertson S. A., Brannstrom S. A., Seamark R. F.: Cytokines in rodent reproduction and the cytokine endocrine interaction. *Curr. Opin. Immunol.* 1992, 4, 585-591.
- Robertson S. A., Mayrhofer G., Seamark R. F.: Uterine epithelial cells synthesize granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-6 in pregnant and nonpregnant mice. *Biol. Reprod.* 1992, 46, 1069-1075.
- Robertson S. A., Seamark R. F., Guilbert L. J., Wegmann T. H.: The role of cytokines in gestation. *Crit. Rev. Immunol.* 1994, 14, 239-292.
- Romero R., Maczor M., Brandt F., Sepulveda W., Avila C., Cotton D. B., Dinarello C. A.: Interleukin-1 α and interleukin-1 β in preterm and term human parturition. *Am. J. Reprod. Immunol.* 1992, 27, 117-123.
- Shorter S. C., Vince G. S., Starkey P. M.: Production of granulocyte colony-stimulating factor at the materno-foetal interface in human pregnancy. *Immunology.* 1992, 75, 468-473.
- Takacs L., Kovacs E. J., Smith M. R., Young H. A., Durum S. K.: Detection of IL-1 α and IL-1 β gene expressions by in situ hybridization. Tissue localization of IL-1 mRNA in the normal C57BL/6 mouse. *J. Immunol.* 1988, 141, 3081-3087.
- Tangri S., Raghupathy R.: Expression of cytokines in placentas of mice undergoing immunologically mediated spontaneous fetal resorptions. *Biol. Reprod.* 1993, 49, 850-855.
- Thatcher W. W., Binelli M., Burke J., Staples C. R., Ambrose J. D., Coelho S.: Antiluteolytic signals between the conceptus and endometrium. *Theriogenology.* 1997, 47, 131-140.
- Wegmann T. G.: Maternal T cells promote placental growth and prevent spontaneous abortion. *Immunol. Lett.* 1989, 17, 297-304.
- Zou J. J., Schoenhaut D. S., Carvajal D. M., Warriar R. R., Presky D. H., Gately M. K., Gubler U.: Structure-function analysis of the p35 subunit of mouse interleukin-12. *J. Biol. Chem.* 1995, 270, 5865-5881.