

Różnice gatunkowe w mechanizmach warunkujących matczyne rozpoznanie ciąży u ssaków

MARTA J. SIEMIENIUCH, MAREK BOGACKI*, DARIUSZ J. SKARŻYŃSKI,
IZABELA WOCLAWEK-POTOCKA

Zakład Immunologii Rozrodu, *Pracownia Biologii Zarodka Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN,
ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn

Siemieniuch M. J., Bogacki M., Skarżyński D. J., Woclawek-Potocka I.

Differences between species in maternal recognition of pregnancy in mammals

Summary

The maternal recognition of pregnancy in mammals is based on the communication between embryo/fetus, uterus and corpus luteum. The development and maintenance of the gestation needs a great deal of physiological adaptations in females, especially in the immunological system. In ruminants IFN τ has a basic meaning for the maternal recognition of pregnancy. IFN τ is an antyluteolytic factor produced by mononuclear cells in the trophoblast and ensure the communication between the female and the developing embryo. However, in pigs IFN τ secretion is not a factor of pregnancy recognition and the communication between the mother and embryos may be conducted by estrogens at about 10-11 days of gestation and the change in PGF $_{2\alpha}$ secretion. Up until now interferone produced by trophoblasts has not been observed in horses. Pregnancy maintenance and embryo development depends on the embryo migration in the uterus lumen before implantation. Little is known about maternal recognition signals of pregnancy in carnivores. The only thing that has been confirmed is elevated concentrations of acute phase proteins (C-reactive protein, haptoglobin, fibrinogen, seromucoid, ceruloplasmine, glikoproteins) detected in pregnant bitches' serum.

Keywords: maternal recognition of pregnancy, interferon tau, prostaglandins, corpus luteum

U ssaków utrzymanie ciąży zachodzi dzięki komunikacji pomiędzy zarodkiem/płodem wraz z błonami płodowymi, macicą oraz ciałkiem żółtym. Interakcje te zapobiegają funkcjonalnej oraz strukturalnej regresji ciała żółtego i luteolizie. O sukcesie reprodukcyjnym decyduje zwłaszcza faza okołoimplantacyjna, podczas której wskaźnik zamieralności zarodkowej jest najwyższy. Z tego względu matczyne rozpoznanie ciąży, rozumiane jako synteza i uwalnianie swoistych czynników utrzymujących ciążę, jak również modyfikujące działalność układu immunologicznego samicy, jest kluczowym zjawiskiem dla utrzymania i rozwoju ciąży.

Rozwój i utrzymanie ciąży wymaga szeregu fizjologicznych adaptacji organizmu matki, zwłaszcza układu immunologicznego. Przystosowanie to należy rozumieć jako modyfikacje dotyczące zmiany liczby komórek układu odpornościowego i ich fenotypu, pełnionych przez nie funkcji oraz zdolności do wydzielania specyficznych czynników, np. cytokin. Cytokiny uczestniczą w utrzymaniu funkcji cyklicznego ciała żółtego, adhezji zarodka do błony śluzowej macicy, implantacji, a następnie partycypują w mechanizmach odpowiedzialnych za jego wzrost i różnicowanie. Miejscowa obecność odpowiedniej ilości cytokin podczas ciąży, wydaje się mieć decydujące znaczenie dla jej utrzymania (19). Matczyne układ odpornościowy podlega wówczas selektywnej tolerancji immunologicznej, immunosupresji oraz immunomodulacji,

przy towarzyszącej mu silnej odporności przeciwbakteryjnej.

Koncepcja traktująca ciążę jako stan immunomodulacji-immunosupresji, pozwalający na implantację i rozwój zarodka, będącego swoistym aloprzeszczepem, akceptowana jest od lat. Łożysko nie stanowi bowiem szczelnej bariery umożliwiającej całkowite odseparowanie komórek płodu i matki od siebie, jak sugerował Medawar (16), natomiast pozwala na wzajemną wymianę i komunikację komórek podczas ciąży. Zarówno komórki pochodzenia płodowego (6), jak również DNA płodu przedostają się do krążenia matczyne i mogą być w nim wykrywane długi czas po porodzie (6). Doniesienia te wskazują, że za immunologiczną interakcję między płodem a matką odpowiadają regulacyjne mechanizmy zlokalizowane w krążeniu obwodowym, których rolą jest zahamowanie odpowiedzi układu immunologicznego skierowanej na płodowe alloantygeny.

Okres przedimplantacyjny oraz faza adhezji, kontaktu i wnikania komórek zarodka do komórek macicy oraz łożyskowanie wymagają bardzo precyzyjnych, gatunkowo specyficznych, mechanizmów regulacyjnych. Interakcje matczyne-zarodkowe w fazie przedimplantacyjnej prowadzą do matczyne rozpoznanie ciąży i jej utrzymania. Zarodek w tej fazie wytwarza ogromną ilość substancji biologicznie czynnych: cytokin (interferony, interleukiny 1, 2, 4, 6, 10, GM-CSF, TNF α), enzymów (prote-

aza metaloprotein stromy oraz tkankowy inhibitor metaloproteinaz), prostaglandyn (prostaglandyna E i F), hormonów (hormon uwalniający kortykotropiny, estrogeny).

Sygnaly rozpoznania ciąży

Owce

Zahamowanie luteolizy, podtrzymanie funkcji aktywnego ciała żółtego (CL) i wydzielania progesteronu (P4) są kluczowymi warunkami utrzymania ciąży w jej wczesnym okresie. Badania prowadzone na owcach wykazały, że zasadniczym mechanizmem regulującym luteolizę jest pozytywne sprzężenie zwrotne pomiędzy oksytocyną (OT) wydzielaną przez CL i/lub przysadkę oraz lutelityczną prostaglandyną (PG) $F_{2\alpha}$, produkowaną przez błonę śluzową macicy. Interakcja pomiędzy tymi czynnikami zapewnia powrót do cyklu jajnikowego. Regulatorami ekspresji receptorów dla OT (OTR) w błonie śluzowej macicy owcy są progesteron i estrogeny. Jednakże mechanizm ten zostaje zahamowany w wyniku zapłodnienia i rozwoju zarodka, przeciwdziałając regresji CL (13).

U przeżuwaczy INF τ posiada zasadnicze znaczenie dla matczyne rozpoznania ciąży. Jest produkowany przez komórki mononuklearne trofoektodermy i pełni rolę antyluteolitycznego sygnału służącego do komunikacji między rozwijającym się zarodkiem a układem rozrodczym samicy (4). Zadaniem INF τ jest wywieranie efektu antyluteolitycznego na błonę śluzową macicy, realizowane na drodze parakrynej, który zapobiega produkcji i pulsacyjnemu uwalnianiu $PGF_{2\alpha}$. Interferony tau są specyficzne dla gatunku zwierzęcia. U wszystkich przeżuwaczy INF τ syntetyzowany jest przez trofoektodermę w okresie przed- i okołopłodowym, pomiędzy dniem 10. a 21.-24. ciąży, i jest odpowiedzialny za hamowanie pulsacyjnego wydzielania prostaglandyny $F_{2\alpha}$.

U owiec INF τ posiada sześć izoform, które różnią się jakościowo i ilościowo w wywieraniu efektu antyluteolitycznego (15). Owce białko trofoblastu-1 (oTP-1), będące wariantem INF τ , jest pierwszym białkiem produkowanym przez trofoektodermę w okresie okołopłodowym i ma zasadnicze znaczenie dla procesu knidacji (4, 22). Owce białko trofoblastu-1 prezentuje sekwencję aminokwasów w 45-70% odpowiadającą sekwencji interferonów tau, spotykanych u pozostałych gatunków ssaków (22). Białko to, oprócz zasadniczej antyluteolitycznej funkcji, posiada również aktywność antywirusową oraz wykazuje niską toksyczność (22). Stwierdzono również aktywność antyproliferacyjną oraz immunomodulującą tego białka. Synteza i uwalnianie owczego INF τ wydaje się zależna od rozwoju zarodka. U owcy rozpoczyna się około 10. dnia ciąży i prezentuje tendencję rosnącą wraz z początkowym wzrostem zarodka, osiągając maksimum około 12.-13. dnia ciąży (22). Fakt ten jest istotny zwłaszcza podczas embriotransferu, który z powodzeniem można przeprowadzić u owiec do 12. dnia cyklu, tj. od 48 do 72 godzin przed rozpoczęciem spodziewanej luteolizy. Z powodu niemożności wykrycia tej substancji w krwi obwodowej, przyjmuje się, że działanie oTP-1 ma charakter lokalny i ograniczone jest do błony śluzowej macicy – działanie parakryjne (4). Domaciczne podanie INF τ powoduje wydłużenie fazy lutealnej cyklu rujowego poprzez luteotropowe działanie w stosun-

ku do CL. Z tego względu owczy INF τ traktowany jest jako antyluteolityczny czynnik rozpoznania wczesnej ciąży, produkowany przez zarodek (4).

Oczyszczony rekombinant owczego INF τ hamuje wywołaną OT produkcję i pulsacyjne uwalnianie $PGF_{2\alpha}$ oraz przedłuża trwanie CL u przeżuwaczy. Interferon- τ działa antyluteolitycznie u owiec poprzez: hamowanie transkrypcji genu dla receptora estrogenowego, pośrednio wpływając także na transkrypcje genu dla receptora OTR, stabilizację lub podwyższenie fizjologicznego progu dla receptorów P4 w śluzówce macicy, bezpośredni wpływ na zahamowanie wrażliwości receptora estrogenowego oraz OTR, indukcję syntezy w inhibitora enzymu koniecznego do syntezy $PGF_{2\alpha}$, co w konsekwencji zapobiega pulsacyjnemu uwalnianiu $PGF_{2\alpha}$ w efekcie działania OT (13, 23). Zaobserwowano bowiem, że zarówno podczas ciąży, jak i po domacicznym podaniu INF τ , następuje zahamowanie transkrypcji genów receptora dla estrogenów oraz OTR w warstwie epitelialnej oraz wydzielniczej śluzówki macicy owcy. Molekularne mechanizmy regulacji transkrypcji genów dla receptorów P4 i estrogenów obejmują specyficzne czynniki regulacyjne zależne od INF τ , do których należą IRF-1 i IRF-2 (IFN regulatory factor-1 and 2) hamujące transkrypcję wspomnianych receptorów (27). Śluzówka macicy owcy musi zostać poddana działaniu INF τ przed rozpoczęciem luteolizy w celu skutecznego rozpoznania i podtrzymania ciąży. Jeżeli wzrośnie liczba macicznych receptorów OTR, INF τ nie będzie w stanie zapobiec luteolizie. Ekspozycja śluzówki na INF τ musi nastąpić pomiędzy 11./12. a 14. dniem ciąży, aby zablokować ekspresję OTR i w konsekwencji pulsacyjne uwalnianie luteolitycznej $PGF_{2\alpha}$. Regulatorami ekspresji OTR w błonie śluzowej macicy owcy są progesteron i estrogeny.

Interferon tau wpływa na sekrecję białek *de novo* poprzez skrawki macicy owcy. Stwierdzono syntezę jedynastu białek oraz spadek produkcji sześciu. Dla porównania, stymulowanie skrawków macicy krowy bydłowym INF τ skutkuje wydzielaniem przynajmniej trzech białek. Białka produkowane pod wpływem owczego INF τ przez błonę śluzową macicy należą do rodziny β_2 -mikroglobuliny, białka Mx posiadającego właściwości przeciwwirusowe oraz 2'-5' syntazy oligoadenylowej (OAS 2',5'-oligoadenylate synthase). Ekspresja tego enzymu jest bezpośrednio regulowana poprzez zarodkowy INF τ , w obecności P4. Dodatkowo OAS uczestniczy w kontroli komórkowego wzrostu i różnicowania. Istotne ilości mRNA białka Mx zostały wykryte również w warstwie naczyńnej – śródbłonku naczyń krwionośnych i nabłonku powierzchniowym śluzówki macicy nieciążarnych owiec. Najwyższą ekspresję białka Mx w śluzówce macicy owcy odnotowano podczas występowania maksymalnego stężenia P4, zarówno w błonie śluzowej macicy, jak i we krwi obwodowej. Najwyższa koncentracja białka Mx przypada na okres dominacji INF τ w macicy, który u owiec ma miejsce między 12.-17. dniem cyklu. Należy zaznaczyć, iż nie stwierdzono ekspresji białka Mx w komórkach łącznotkankowych oraz mięśniowych macicy nieciążarnych owiec. Znaczna ekspresja białka Mx jest wykrywalna jeszcze 25. dnia ciąży, czyli już poza okresem największej produkcji owczego INF τ (1). Rola białka Mx w utrzymaniu wczesnej ciąży wydaje się niepod-

ważalna. Ponadto owczy IFN τ uzyskany z 16-dniowego zarodka wywiera, wraz z innymi białkami wydzielanymi przez trofoblast, hamujący wpływ na limfocyty CD8+ i CD4+ (19), dodatkowo wyizolowano związek o supresorowym działaniu na limfocyty T z komórek jednoczących ze światła macicy w 14. dniu ciąży.

Bydło

Badania dowodzą, że zarodki bydłecze pomiędzy 17. a 25. dniem ciąży wykazują ekspresję kilku genów dla b-IFN τ z cDNA należącym do trzech różnych filogenetycznie grup (- τ 1,2,3). U krów obniżenie ekspresji, występowania i powinowactwa OTR, zapobiegające OT-zależnej produkcji PGF $_{2\alpha}$, jest tylko jednym z wielu mechanizmów antyluteolitycznego działania IFN τ (10, 18, 20, 21). Przyjęto, że u owiec IFN τ hamuje produkcję luteolitycznej PGF $_{2\alpha}$ poprzez obniżenie liczby receptorów estradiolowych, w konsekwencji zapobiegając wzrostowi OTR zależnych od estradiolu. Natomiast u krowy IFN τ hamuje wydzielanie PGF $_{2\alpha}$ w śluzówce macicy na drodze bezpośredniej, nie polegającej jedynie na obniżeniu liczby OTR, lecz poprzez obniżenie ekspresji enzymów szlaku syntezy prostaglandyn, w tym syntazy prostaglandynowej G/H (PTGS; dawna nazwa cyklooksigenaza – COX) oraz syntazy prostaglandyny F (PGFS), poprzez mechanizm niezależny od zmian receptora OTR i systemu jego przekazywania wewnątrzkomórkowego. Wykazano, że IFN τ bezpośrednio hamuje kinazę białkową C (PKC), będącą kluczowym elementem kaskady przekazywania informacji wewnątrzkomórkowej, aktywującym enzymatyczny szlak syntezy PGF $_{2\alpha}$, obniża również ekspresję PTGS-2 oraz fosfolipazy A $_2$ (PLA 2), niezależnie od systemu pobudzenia OTR (20). Ponadto IFN τ obniża produkcję PGF $_{2\alpha}$ oraz ekspresję mRNA dla PTGS-2 niezależnie od aktywności wewnątrzkomórkowych przekazników (Raf/MEK1/mitogen-activated PK signaling cascade), prowadząc do aktywacji transkrypcji w odpowiedzi na OT oraz pobudzoną przez nią kinazę białkową C (20). Ponadto IFN τ wpływa na PTGS-2 głównie poprzez układ siedmiu białek regulatorowych będących przekaznikami sygnału i aktywatorów transkrypcji (STAT) (13). W działaniach o charakterze luteotropowym, zachodzących pod wpływem IFN τ , drogą przekazywania sygnału jest układ JAK/STAT (13). Interferon τ bezpośrednio i szybko wpływa więc na osłabienie ekspresji genu PTGS-2, hamując syntezę PGF $_{2\alpha}$ w śluzówce macicy krowy (20). Dowiedziono również, że IFN τ poprzez zahamowanie ekspresji mRNA dla PTGS-2, obniża produkcję i wydzielanie prostaglandyn w komórkach nabłonkowych śluzówki macicy krowy (20), które są pierwotnym źródłem PGF $_{2\alpha}$ (25). Równolegle IFN τ nasila ekspresję PTGS-2 oraz syntazy prostaglandyn w komórkach stromy (20), będących pierwotnym źródłem luteotropowej PGE $_2$ (25).

Kolejnym proponowanym mechanizmem, poprzez który IFN τ hamuje luteolizę, jest wpływ na zmianę kierunku syntezy prostaglandyny luteolitycznej – PGF $_{2\alpha}$ na luteotropową – PGE $_2$ (20). Interferon- τ obniża aktywność syntaz prostaglandyn (PGFSL-2 i ACR1B5) oraz PGE $_2$ -9-ketoreduktazy (PGFSL-1, poprzednia nazwa 9K-PGR – enzym przekształcający PGE $_2$ w PGF $_{2\alpha}$), hamując syntezę PGF $_{2\alpha}$ (12) i jednocześnie wzmagając akumulację PGE $_2$. Badania Skarzyńskiego i in. (24-26), Miyamoto

i in. (17), Woławek-Potockiej (29) wykazały, że jednym z głównych aktywatorów – induktorów wydzielania luteolitycznej PGF $_{2\alpha}$ z macicy krowy jest czynnik martwicy nowotworu (TNF- α). Skoro TNF- α odgrywa kluczową rolę w luteolitycznej kaskadzie u bydła (20, 24), mechanizmy rozpoznania ciąży u krowy winny uwzględnić hamowanie działanie tej cytokiny. Okuda i in. (21) wykazały, że IFN τ hamuje stymulujący efekt TNF- α na pulsacyjne wydzielanie PGF $_{2\alpha}$ w komórkach łącznotkankowych błony śluzowej macicy krowy poprzez obniżenie ekspresji genu PTGS-2. Interesujące jest, że IFN τ samodzielnie nie wywiera hamującego wpływu na pulsacyjne wydzielanie PGF $_{2\alpha}$ oraz nie obniża bezpośrednio ekspresji tego genu. Wykazano, że efekt hamujący IFN τ występuje jedynie w przypadku TNF- α -regulowanej syntezy PGF $_{2\alpha}$ (21).

W okresie okołomplantacyjnym zarodek odżywiany jest histiotrofowo, dzięki otaczającej go wydzielinie zwanej mleczkiem macicznym. Wydzielina stanowi kompleks białek, lipidów, węglowodanów, cukrów i jonów, niezbędnych we wczesnej fazie rozwoju zarodkowego (1). Wytwarzanie białek następuje prawdopodobnie pod wpływem działania receptora IFN τ . Rozwój i utrzymanie ciąży w okresie okołomplantacyjnym jest u bydła możliwe także w wyniku wzrostu stężenia kwasu linolenowego, określonego początkowo jako inhibitor śródmacicznej syntazy prostaglandyn (EPSI) (28). Kwas linolenowy jest kompetencyjnym inhibitorem kwasu arachidonowego i specyficznych syntaz prostaglandynowych; przy zwiększonej ilości kwasu linolenowego nie dochodzi więc do wystarczającej do luteolizy syntezy PGF $_{2\alpha}$. Prawdopodobnie za wzrost syntezy kwasu linolenowego w śluzówce macicy podczas wczesnej ciąży odpowiedzialny jest wzrost stężenia IFN τ . U bydła wzrost ilości kwasu linolenowego jest charakterystyczny dla okresu okołomplantacyjnego. Zjawisko to nie występuje u owiec, u których stężenie PGF $_{2\alpha}$ jest wyższe u ciężarnych niż cyklicznych samic (28).

Podsumowując, zasadniczą różnicą w mechanizmie rozpoznania ciąży u bydła jest fakt, że produkcja PGF $_{2\alpha}$ nie jest zależna jedynie od OT, jak ma to miejsce u owiec, natomiast IFN τ u bydła oddziałuje na komórki nabłonka śluzówki macicy poprzez kilka mechanizmów.

Kozy

Podobnie jak u pozostałych przeżuwaczy, również u kóz IFN τ odpowiada za wczesne rozpoznanie ciąży i początkową komunikację matczyno-płodową. U kóz stwierdzono, że trofoblast produkuje dwie izoformy IFN τ do 17. dnia ciąży. Antyluteolityczny mechanizm działania IFN τ izolowanych z trofoblastów kozich jest podobny do owczego białka trofoblastu (oTP-1) (4).

Świnie

Matczynie rozpoznanie ciąży u swiní zgodnie z teorią Bazera i Thatcher'a z 1977 (5), zapoczątkowane jest produkcją estrogenów przez blastocysty około 11. dnia ciąży, co jest uznawane za główny czynnik zapobiegający regresji ciała żółtego (3). Oszacowano, że już w 13. dniu ciąży w sumie około 1,4 μ g wolnych estrogenów opuszcza obszar macicy, co jest ilością olbrzymią i mogącą stanowić potężny sygnał uczestniczący w matczym rozpoznaniu ciąży. Jednak istnieje wiele nieścisłości zwią-

zanych z danymi dotyczącymi stężenia estrogenów we krwi. Stężenia siarczanu estronu u krytych loszek wynosiły 100-200 pg/ml więcej niż u loszek nieciążarnych w tym samym czasie od owulacji, jednak nie jest pewne, czy źródłem estronu jest zarodek, a do jakiego stopnia estrogeny produkowane są przez macicę i jajnik. Wiadomo natomiast, że podanie estrogenów pomiędzy 11. a 15. dniem cyklu rujowego u lochy skutkuje utrzymaniem czynności ciała żółtego przez okres równy długości ciąży i wywołaniem stanu ciąży rzekomej (2). Wiele wskazuje więc, że estrogeny są najważniejszym sygnałem wysyłanym z zarodka i to właśnie one modulacją wydzielania i syntezy prostaglandyn, które, tak jak u innych gatunków (przeżuwacze), posiadają kluczowe znaczenie we wczesnym rozpoznaniu i utrzymaniu ciąży (30).

Prostaglandyna $F_2\alpha$, u tego gatunku, odgrywa istotną rolę w regresji ciała żółtego (8), obniżając koncentrację progesteronu poprzez wysoce specyficzne receptory, które występują w dużych komórkach lutealnych. Ilość tych receptorów w wyizolowanych komórkach lutealnych wzrasta po 12. dniu cyklu, jednak około 14. dnia ciąży i pseudociąży ilość receptorów była znacznie niższa niż w analogicznym okresie w cyklicznych loch (8). Sugeruje to, że redukcja poziomu wiązania $PGF_2\alpha$ w czasie ciąży odgrywa istotną rolę w maczynym rozpoznaniu ciąży (30).

Badania wskazują, że u świń w cyklu poziom $PGF_{2\alpha}$ we krwi obwodowej wzrasta od 12. dnia cyklu i osiąga najwyższe stężenie 17. dnia (5-9 ng/ml). U świń ciężarnych natomiast najwyższe stężenie $PGF_2\alpha$ we krwi macicznej wynosiło około połowę tej wartości (2,8 i 2,3 ng/ml), odpowiednio, w 15. i 16. dniu ciąży. W kolejnych dniach ciąży następowało obniżenie się tego stężenia we krwi obwodowej i macicznej. Tak więc ochronny wpływ estrogenów, pochodzących z zarodka na ciało żółte, określane jako działanie antyluteolityczne, polegać może na redukcji oddziaływania $PGF_2\alpha$ na ciało żółte ciążowe.

Proponowanych jest kilka mechanizmów podejmujących próbę wyjaśnienia tego zjawiska. Jednym z nich jest funkcjonujący w obrębie krezki macicy mechanizm przeciwnarodowego przenikania $PGF_2\alpha$ z krwi żyłnej i limfy do macicy (retrograde transfer) oraz zdolność żył i tętnic macicy do akumulacji $PGF_2\alpha$ (11). W ten sposób zredukowana ilość luteolitycznej prostaglandyny docierającej do jajnika miałyby przedłużyć funkcje ciała żółtego na potrzeby rozwijającego się zarodka i środowiska macicznego. Jednak z wcześniejszych badań wynika, że stężenie $PGF_2\alpha$ we krwi odpływającej żyłami z macicy jest już znacznie niższe u loszek ciężarnych w porównaniu z loszkami cyklicznymi. Mogłoby to świadczyć, że synteza $PGF_2\alpha$ jest zredukowana już w komórkach *endometrium* lub, że zgodnie z teorią Bazera i Thatcher'a (5), mechanizm ochrony ciała żółtego przed jego regresją jest egzokrynną sekrecją $PGF_2\alpha$ do światła macicy w 13.-17. dniu po inseminacji, zainicjowana przez estrogeny pochodzące z zarodka. Jednak pojawia się pytanie, czy wspomniany mechanizm usuwania $PGF_2\alpha$ do światła macicy jest wystarczającym mechanizmem ochrony ciała żółtego.

Mechanizmami wspomagającymi u świń mogłyby być zmiany w syntezie prostaglandyn. Wykazano bowiem podwyższoną ekspresję genu COX-2 zarówno podczas luteolizy, jak również u samic ciężarnych we wczesnej

ciąży (30). Wskazuje to na dużą rolę tego enzymu w produkcji prostaglandyn podczas luteolizy oraz w okresie maczynego rozpoznania ciąży. Natomiast wysoka ekspresja PGES-1 (końcowy enzym w syntezie PGE_2) w śluzówce macicy w 10.-11. dniu ciąży wpływa na zmianę stosunku $PGE_2 : PGF_{2\alpha}$ niezbędnego podczas maczynego rozpoznania ciąży (30). W badaniach *in vitro* wykazano, że komórki lutealne stymulowane PGE_2 i $PGF_{2\alpha}$ w stosunku 2 : 1 i 4 : 1 produkują zwiększone ilości estradiolu (30). Fakt ten świadczy o tym, że komórki lutealne są dodatkowym źródłem produkującym estradiol pod wpływem PGE_2 we wczesnej ciąży.

Estrogeny ponadto utrzymują wysoką ilość receptorów LH w ciałku żółtym, posiadając przy tym bezpośrednie działanie luteotropowe oraz łącznie ze zwiększoną ilością PGE_2 zapewniają prawidłowy przepływ krwi w błonie śluzowej macicy i ciałku żółtym.

Konie

Jak dotąd nie stwierdzono obecności IFN pochodzenia zarodkowego w przypadku koni. Maczynie rozpoznanie ciąży zależne jest od przemieszczania się zarodka wewnątrz światła macicy (14) i odgrywa rolę poniżej 15. dnia ciąży (9).

Wpływ wczesnego zarodka na zahamowanie syntezy luteolitycznej $PGF_{2\alpha}$, podobnie jak u innych gatunków, jest mechanizmem przedłużającym wydzielniczość CL i podtrzymującym ciążę u kłaczy (2). W cyklu rujowym u kłaczy wzrost koncentracji $PGF_{2\alpha}$ zarówno w macicznej krwi żyłnej, jak i wypłuczynach z macicy stwierdza się pomiędzy 14. a 16. dniem cyklu. Luteolizie towarzyszy obniżenie koncentracji produkowanego P4 przez CL. U ciężarnych kłaczy odnotowuje się spadek stężenia $PGF_{2\alpha}$ zarówno w krwi żyłnej, jak również w wypłuczynach z macicy. Stwierdza się również nieobecność bądź silnie obniżoną liczbę OTR we wczesnej ciąży u kłaczy (2). Nie do końca poznany jest mechanizm, dzięki któremu migrujący w świetle macicy zarodek pomiędzy 12. a 18. dniem ciąży hamuje syntezę prostaglandyny luteolitycznej. Należy zaznaczyć, że u kłaczy do tej pory nie został dokładnie wyjaśniony mechanizm indukowania i przebiegu luteolizy. Fakt ten pozwala jedynie przypuszczać i spekulować, jaki będzie hipotetyczny mechanizm ochronny, CL przeciwdziałający jego regresji. Obserwuje się wysokie stężenia estradiolu i estronu produkowane przez zarodek między 8. a 20. dniem ciąży. Jednakże doświadczenia z podaniem estrogenów w celu przedłużenia aktywności CL nie przyniosły jednoznacznych wyników. Podczas wczesnej ciąży, pomiędzy 12. a 14. dniem, zarodek koński produkuje trzy ciążowe białka, których mechanizm działania w utrzymaniu wczesnej ciąży nie został nadal jednoznacznie wyjaśniony. Można przypuszczać, że produkcja przez zarodek estrogenów i/lub białek hamuje syntezę i uwalnianie luteolitycznej prostaglandyny przez błonę śluzową macicy, podtrzymuje i wydłuża aktywność wydzielniczą ciała żółtego, biorąc udział w utrzymaniu wczesnej ciąży.

Implantacja zarodka oraz łożyskowanie u kłaczy regulowane jest częściowo przez czynniki wzrostu, w tym – IGF-II, ekspresja genu IGF-II została stwierdzona w tkankach zarodka i łożysku pomiędzy 14. a 150. dniem ciąży. Również nabłonkowy czynnik wzrostu (EGF) rozważany

jest jako czynnik warunkujący implantację, jak też stymulujący wytwarzanie mleczka macicznego (23). Znaczny wzrost ekspresji EGF stwierdza się pomiędzy 33. a 83. dniem ciąży u kłaczy. Zauważono także wzrost ilości TGF- β 1 w śluzówce macicy kłaczy w okresie okołoimplantacyjnym (33.-45. dzień ciąży), wnioskuje się więc również o udziale tego czynnika w omawianym procesie. Pozostałe mediatory implantacji i łożyskowania, których obecność w podwyższonym stężeniu stwierdzono w okresie okołoimplantacyjnym u kłaczy, to: TNF- α , IL-2, IL-4, IFN- γ (23).

W śluzówce macicy ciężarnej kłaczy wraz z rozwojem ciąży wykształcają się specyficzne dla gatunku kubki maciczne, będące płodowym aloprzeszczepem. W tych strukturach, pomiędzy 33. a 120. dniem ciąży, zachodzi produkcja kosmówkowej gonadotropiny (eCG) (1). Rolą hormonu kosmówkowego jest podtrzymywanie syntezy P4 i utrzymanie rozwijającej się ciąży.

Psy

Wiedza koncentrująca się na macicznym rozpoznaniu ciąży i biologicznie aktywnych substancjach warunkujących to rozpoznanie, a przede wszystkim sam mechanizm indukowania i przebiegu luteolizy są, w przypadku suk, słabo zbadane. W przypadku mięsożernych nie stwierdzono, jak dotąd, żadnego czynnika charakterystycznego dla wczesnej ciąży, jak ma to miejsce u innych gatunków. Zbadano produkcję dziewięciu białek w skrawkach macicznej części łożyska pochodzących z 26. dnia ciąży oraz stwierdzono syntezę białek przez płodową część łożyska (7). Evans i Anderton (cyt. za 23) stwierdzili podwyższoną koncentrację białek ostrej fazy zapalnej (białko C-reaktywne, haptoglobina, fibrynogen, seromukoid, ceruloplazmina, glikoproteiny) w osoczu ciężarnych suk. Przyczyną tego zjawiska może być reakcja układu immunologicznego samicy wobec obcych antygenów rozwijającego się zarodka.

Mechanizmy warunkujące rozpoznanie wczesnej ciąży oraz dialog pomiędzy zarodkiem a matką stanowią od wielu lat temat intensywnych badań. W produkcji zwierzęcej brak rozpoznania ciąży i nie przekazanie odpowiedniego sygnału antyluteolitycznego do organizmu samicy skutkują wczesną i późną zamieralnością zarodka, co w konsekwencji powoduje ogromne straty ekonomiczne. Dotychczas wykazano, że zasadniczym mechanizmem antyluteolitycznym jest zwiększona produkcja PGE₂, zapewniająca odpowiedni stosunek PGE₂ : PGF_{2 α} , natomiast obecność estrogenów oraz innych czynników o charakterze immunomodulującym zapewnia wczesne i precyzyjne rozpoznanie, a przede wszystkim utrzymanie ciąży przez organizm samicy.

Piśmiennictwo

1. Bazer F. W.: Establishment of pregnancy in sheep and pigs. *Reprod. Fert. Dev.* 1989, 1, 237-242.
2. Bazer F. W.: Mediators of maternal recognition of pregnancy in mammals. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1992, 199, 373-384.
3. Bazer F. W., Geisert R. D., Thatcher W. W., Roberts R. M.: The establishment and maintenance of pregnancy, [w:] Cole D. J. A., Foxcroft G. R.: *Control of Pig Reproduction*. Butterworth Scientific, London 1982, 227-252.
4. Bazer F. W., Spencer T. E., Ott T. L., Johnson H. M.: Cytokines and pregnancy recognition, [w:] Hunt J. S.: *Immunology of Reproduction*. Springer-Verlag, New York 1994, 37-56.
5. Bazer F. W., Thatcher W. W.: Theory of maternal recognition of pregnancy in swine based on estrogen controlled endocrine versus exocrine secretion

- of prostaglandin F_{2 α} by uterine endometrium. *Prostaglandins* 1997, 14, 397-401.
6. Bianchi D. W., Zickwolf G. K., Weil G. J., Sylvester S., DeMaria M. A.: Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 1996, 93, 705-708.
7. Buhi W. C., Shille V. M., Thatcher M. J., Alvarez I. M., Qiu Y. X.: Identification and immunolocalization of proteins synthesized by dog endometrium membranes. *J. Reprod. Fert. (Suppl.)* 1993, 47, 141-157.
8. Gadsby J. E., Lovdal J. A., Brott J. H., Fitz T. A.: Prostaglandin F_{2 α} receptor concentration in corpora lutea of cyclic, pregnant, and pseudopregnant pigs. *Biol. Reprod.* 1993, 49, 604-608.
9. Hershman L., Douglas R. H.: The critical period for maternal recognition of pregnancy in pony mares. *J. Reprod. Fert. (Suppl.)* 1979, 27, 395-401.
10. Kotwica J., Skarzynski D., Miszkil H., Melin P., Okuda K.: Oxytocin modulates the pulsatile secretion of prostaglandin F_{2 α} in initiated luteolysis in cattle. *Res. Vet. Sci.* 1999, 66, 1-5.
11. Krzymowski T., Kotwica J., Stefanczyk-Krzybowska S.: Uterine and ovarian countercurrent pathways in the control ovarian function in the pig. *J. Reprod. Fert. (Suppl.)* 1990, 40, 179-191.
12. Madore E., Harley N., Parent J., Chappelaine J., Arosh J. A., Fortier M. A.: An aldose reductase with 20 α hydroxysteroid dehydrogenase activity is most likely the enzyme responsible for the production of prostaglandin F_{2 α} in the bovine endometrium. *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 11205-11212.
13. Maj T., Chelmońska-Soyta A.: Pleiotropy and redundancy of STAT proteins in Elary pregnancy. *Reprod. Dom. Anim.* 2007, 42, 343-353.
14. Martal J., Assal N. E., Assal A., Zouari K., Huynh L., Chene N., Reinaud P., Charpigny G., Charlier M., Chaout G.: Immunoendocrine functions of trophoblast interferons (IFN- τ or TP-1 or trophoblastin) in the maternal recognition of pregnancy, [w:] Glasser S. R. i wsp. (Eds.): *Endocrinology of Embryo-Endometrium Interactions*. Plenum Press, New York 1994, 195-216.
15. Martal J., Degryse E., Charpigny G., Assal N., Reinaud P., Charlier M., Gaye P., Lecocq J. P.: Evidence for extended maintenance of the corpus luteum by uterine infusion of a recombinant trophoblast α -interferon (trophoblastin) in sheep. *J. Endocrinol.* 1990, 127, R5-R8.
16. Medawar P. B.: Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 1953, 7, 320-338.
17. Miyamoto Y., Skarzynski D. J., Okuda K.: Is tumor necrosis factor- α a trigger for the initiation of endometrial prostaglandin F_{2 α} release at luteolysis in cattle? *Biol. Reprod.* 2000, 62, 1109-1115.
18. Murakami S., Miyamoto Y., Skarzynski D. J., Okuda K.: Effects of tumor necrosis factor- α on secretion of prostaglandin E₂ and F_{2 α} in bovine endometrium throughout the estrous cycle. *Theriogenology* 2001, 55, 1667-1678.
19. Nasu K., Narahara H., Matsui N., Kawano Y., Tanaka Y., Miyakawa I.: Platelet-activating factor stimulates cytokine production by human endometrial stromal cells. *Mol. Human Reprod.* 1999, 5, 548-553.
20. Okuda K., Miyamoto Y., Skarzynski D. J.: Regulation of endometrial prostaglandin F_{2 α} synthesis during luteolysis and early pregnancy in cattle. *Dom. Anim. Endocrin.* 2002, 23, 255-264.
21. Okuda K., Kasahara Y., Murakami S., Takahashi H., Woclawek-Potocka I., Skarzynski D. J.: Interferon- τ blocks the stimulatory effect of tumor necrosis factor- α on prostaglandin F_{2 α} synthesis by bovine endometrial stromal cells. *Biol. Reprod.* 2004, 70, 191-197.
22. Pontzer C. H., Bazer F. W., Johnson H. M.: Antiproliferative activity of a pregnancy recognition hormone, ovine trophoblast protein-1. *Cancer Res.* 1991, 51, 5304-5309.
23. Schäfer-Somi S.: Cytokines during early pregnancy of mammals: a review. *Ani. Reprod. Sci.* 2003, 75, 73-94.
24. Skarzynski D. J., Bah M. M., Deptula K., Woclawek-Potocka I., Korzekwa A., Shibaya M., Pilawski W., Okuda K.: Roles of Tumor Necrosis Factor- α of the estrous cycle in cattle: An in vivo study. *Biol. Reprod.* 2003, 69, 1907-1913.
25. Skarzynski D. J., Miyamoto Y., Okuda K.: Production of prostaglandin F_{2 α} by cultured bovine endometrial cells in response to tumor necrosis factor α : cell type specificity and intracellular mechanism. *Biol. Reprod.* 2000, 62, 1116-1120.
26. Skarzynski D. J., Woclawek-Potocka I., Korzekwa A., Bah M. M., Piotrowska K., Barszczewska B., Okuda K.: Infusion of exogenous tumor necrosis factor dose dependently alters the length of the luteal phase in cattle: differential responses to treatment with indomethacin and L-NAME, a nitric oxide synthase inhibitor. *Biol. Reprod.* 2007, 76, 619-627.
27. Spencer T. E., Ott T. L., Bazer F. W.: Tau interferon; Pregnancy recognition signal in ruminants. *Proc. Exp. Biol. Med.* 1996, 213, 215-224.
28. Thatcher W. W., Meyer M. D., Danet-Desnoyers G.: Maternal recognition of pregnancy. *J. Reprod. Fert.* 1995, Suppl. 49, 15-28.
29. Woclawek-Potocka I., Deptula K., Bah M. M., Lee H. Y., Okuda K., Skarzynski D. J.: Effects of nitric oxide and tumor necrosis factor- α on production of prostaglandin F_{2 α} and E₂ in bovine endometrial cells. *J. Reprod. Dev.* 2004, 50, 333-340.
30. Zięciak A. J., Blińska A., Kaczmarek M. M., Waclawik A., Bogacki M.: Inhibition of luteolysis and embryo-uterine interactions during the peri-implantation period in pigs. *Soc. Reprod. Fert. (Suppl.)* 2006, 62, 147-161.

Adres autora: dr n. wet. Marta J. Siemieniuch, ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn; e-mail: martas@pan.olsztyn.pl