Istotne aspekty oddziaływania wybranych czynników wzrostu na funkcjonowanie układu rozrodczego samic*)

MAGDALENA WOŻNA, MARTA RYBSKA, MONIKA ŚWIERCZEWSKA*,
JĘDRZEJ M. JAŚKOWSKI

Instytut Weterynarii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach,
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wołyńska 35, 60-637 Poznań

*Katedra Histologii i Embriologii, Wydział Lekarski II,
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Święcickiego 6, 60-781 Poznań

Otrzymano 22.12.2016

Zaakceptowano 31.01.2017

Woźna M., Rybska M., Świerczewska M., Jaśkowski J. M.
**Relevant aspects of the influence of chosen growth factors
on the activity of the female reproductive system**

Summary

The endometrium of the uterus is a highly dynamic structure in terms of its changes during the various stages of the sexual cycle. These changes are the result of cyclical fluctuations in the concentrations of steroid hormones and local factors of an auto – and paracrine – nature. This condition indicates that the causes of degenerative processes of the uterus must be sought not only in disorders of the hormonal profile and bacterial infections but also disorders at the molecular level. Factors that may play a key role in the formation and development of various pathologies of the female reproductive system include growth factors and their receptors (growth factors – GFs). Discussing these growth factors in the work may provide useful molecular markers that identify pathological conditions of the endometrium. Subject to expression in the endometrium, they are involved in the regulation of cell proliferation, migration and secretion of the glandular epithelium, they also regulate physiological and pathological angiogenesis, revealing strong pro-inflammatory effects. In this research, the authors present an overview of current scientific reports indicating that changes in the expression of studied factors, and thus disturbances in their effects, may constitute one of the causes of pathogenesis within the uterus in many animal species.

Keywords: growth factors, uterus, endometrium, uterine diseases

Głównym zadaniem błony śluzowej macicy ssaków jest zapewnienie odpowiednich warunków do rozwoju znajdujących się w macicy zarodków, ich właściwej implantacji, jak również prawidłowego rozwoju płodu. W odpowiedzi na stymulację hormonami płciowymi *endometrium* przechodzi szereg cyklicznych zmian skutkujących jego przebudową. Proces ten kontrolowany jest przez szereg czynników pochodzenia auto- i parakrynowego, do których należą m.in: cytokiny, interleukiny, czynniki wzrostu oraz inne molekuly (13, 47 54).

Wytwarzane przez różne tkanki organizmu czynniki wzrostowe stanowią ważne stymulatory biologiczne wielu procesów ustrojowych. Poprzez działanie autokrynne i parakrynne wpływają na prawidłowe

funkcjonowanie błony śluzowej macicy przez stymulację podziałów mitotycznych oraz różnicowanie komórek. Ponadto zaangażowane są w prawidłowe procesy interakcji *endometrium*–trofoblast, wczesne etapy utrzymania ciąży, złuszczenie tkanki przy braku implantacji, jak również w funkcjonalne procesy regeneracyjne *endometrium* (9, 21, 24). Niewłaściwa aktywność tych substancji powodowana zaburzeniami ekspresji kodujących je genów prowadzić może do istotnej deregulacji procesów wzrostu i apoptozy komórek. W konsekwencji ugruntowuje podłoże zmian patologicznych w błonie śluzowej macicy.

Celem niniejszej pracy jest przybliżenie roli wybranych czynników wzrostu potencjalnie zaangażowanych w patogenezę schorzeń macicy. Ich różnorodność funkcjonalna oraz szeroki zakres aktywności biologicznej przejawiający się wpływem na różne tkanki

*) Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji DEC-2013/09/N/NZ/5/0183.

organizmu, a zwłaszcza układ rozrodczy samic sprawił, że stały się one przedmiotem wielu badań. Zarówno zaburzenia na poziomie ekspresji tych czynników, jak i zaburzenia hormonalne oraz zakażenia bakteryjne mogą prowadzić do rozwoju niepłodności samic.

Transformujący czynnik wzrostu beta (Transforming Growth Factor beta, TGF- β)

Transformujące czynniki wzrostu beta należą do rodziny wielofunkcyjnych cytokin odpowiedzialnych za wiele istotnych procesów w organizmie. Syntetyzowane przez komórki różnego pochodzenia, zaangażowane są m.in. we wzrost, różnicowanie oraz migrację. Ponadto uczestniczą w procesach formowania i degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej, angiogenezy, chemotaksji oraz apoptozy (7, 42, 59). Produkowane są głównie przez komórki jednojądrzaste, do których należą m.in. aktywowane monocyty czy limfocyty. Znaczący wzrost stężenia cytokin należących do tej grupy odnotowano w miejscach reakcji zapalnej (20, 38).

Zaburzenia w syntezie TGF- β oraz mechanizmie transdukcji sygnału dla tej rodziny białek mogą prowadzić do niekontrolowanej apoptozy komórek. Aktywacja szlaku TGF- β 1, 2 i 3 następuje poprzez ten sam system sygnalizacji receptorowej. Ulegając ekspresji w błonie śluzowej macicy, mogą indukować specyficzne mechanizmy zróżnicowania i przekształcania komórek *endometrium* (1, 6).

Różnice w ekspresji TGF- β 1, 2 i 3 w *endometrium* zależne od fazy cyklu płciowego oraz gatunku zwierząt wykazano w licznych badaniach (6, 25, 58). Jak wskazują dostępne dane literaturowe, w błonie śluzowej macicy kobiet szereg białek należących do rodziny TGF- β podlega zróżnicowanej ekspresji w różnych fazach cyklu miesięczkowego. Głównym miejscem występowania TGF- β 2 jest zrąb *endometrium*, podczas gdy TGF- β 1 i TGF- β 3 zlokalizowano zarówno w komórkach nabłonka, jak i zrębie błony śluzowej macicy (25, 58). TGF- β 1 stwierdzano przede wszystkim w gruczołach endometrialnych oraz w płynie macicy (49). Cyklicznych zmian w poziomie ekspresji nie odnotowano w odniesieniu do cytokin TGF- β 1 i TGF- β 2, odwrotnie niż w przypadku TGF- β 3, który jest syntetyzowany przez gruczoły *endometrium* w późnej fazie wydzielniczej cyklu płciowego (30, 58).

Zwiększone stężenie TGF- β 1 w tkance endometrialnej uznawane jest za podstawę patofizjologii chorób błony śluzowej macicy. Przyjmuje się, że TGF- β 1 hamuje naturalną aktywność NK, indukuje angiogenezę oraz proliferację komórek zrębu *endometrium* (41). Według Omwandho i wsp. (46), transformujące czynniki wzrostu β nie tylko uczestniczą w inicjacji menstruacji u kobiet poprzez skurcz naczyń krwionośnych, ale również w procesach naprawczych tkanek. Co więcej, czynniki te syntetyzowane są przez komórki *endometrium* oraz makrofagi, przenikając do płynu macicznego mogą oddziaływać na zarodek w okresie okołomplantacyjnym (24, 30, 58). Identyfikowane

w płynie otrzewnowym kobiet cierpiących na endometriozę, kandydują do miana kluczowych czynników uczestniczących w rozwoju bądź utrzymaniu tej patologii (46). Dla fibroblastów czynniki należące do TGF- β stanowią chemotaksyny, które indukują syntezę kolagenu oraz fibronektyny. Nadekspresja cytokiny TGF- β skutkuje nadmiernym odkładaniem składników macierzy pozakomórkowej, która towarzyszy również procesom zwłóknienia nerek, płuc oraz rozwojowi zmian włókniasto-torbielowatych gruczołu piersiowego (57).

Immunosupresyjne oraz przeciwzapalne działanie TGF- β 1 zostało potwierdzone w wielu badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* (3, 31). U myszy pozbawionych genu kodującego TGF- β 1 obserwuje się wielonarządową odpowiedź zapalną. Jej efektem jest śmiertelne wyniszczenie organizmu rozwijające się w ciągu dwóch tygodni (8). Genetycznie modyfikowane zwierzęta z usuniętym genem TGF- β 1 wykazują zwiększoną podatność na rozwój stanu zapalnego jelita cienkiego oraz grubego (55).

Ekspresję TGF- β w *endometrium* podczas ciąży i poszczególnych faz cyklu rujowego scharakteryzowano u wielu gatunków. Jak dotąd szeroko przebadano zarówno transdukcję sygnału transformujących czynników wzrostu, jak i biologiczne funkcje ich szlaku sygnalizacyjnego (1, 6, 7, 42, 40, 64). Caron i wsp. (7) wykazali, iż wszystkie izoformy TGF- β ulegają ekspresji podczas regresji podstawnej doczesnej warstwy błony śluzowej macicy. Potwierdzili też apoptotyczne działanie TGF- β 1 na komórki podstawne *endometrium*. Bukowska i wsp. (6) określili aktywność TGF- β 1 i 3 w *endometrium* suk podczas cyklu płciowego. Stwierdzono, że ekspresja analizowanych transkryptów jest zależna od fazy cyklu rujowego. Najwyższy poziom ekspresji TGF- β 1-3 odnotowano w fazie *estrus*, a niższe w fazach *proestrus*, *diestrus* oraz *anestrus*. Wyniki te mogą sugerować, że obserwowane zmiany mogą być powiązane z hormonalną kontrolą jajników.

Rozrost *endometrium* może poprzedzać nowotwory błony śluzowej macicy. Niekontrolowane podziały komórek nabłonkowych macicy prowadzą do stanów patologicznych, a w konsekwencji wpływają na funkcje rozrodcze (22). W badaniach przeprowadzonych na myszach wykazano, iż zaburzenie w ekspresji receptora T β R-I stanowi podstawę zmian rozrostowych, a tym samym jest on istotnym czynnikiem ryzyka rozwoju nowotworów endometrialnych (22, 40).

Rola sygnalizacji szlaków TGF- β w komórkach nabłonkowych macicy nie została dotychczas w pełni zdefiniowana. Ze względu na istotny udział omawianych czynników w procesach komórkowych związanych z proliferacją, różnicowaniem, angiogenezą i immunomodulacją, transformujące czynniki wzrostu beta zostały zidentyfikowane jako potencjalne modulatory wielu zmian zachodzących w błonie śluzowej macicy ssaków podczas cyklu płciowego oraz ciąży (2, 6).

Nabłonkowy czynnik wzrostu (Epidermal Growth Factor, EGF)

Podobnie jak omawiane wcześniej TGF- β , nabłonkowe czynniki wzrostu (EGF) odgrywają istotną rolę w procesach determinacji, kształtowania, proliferacji, migracji i różnicowania komórek całego organizmu (4, 32). Białka należące do rodziny nabłonkowych czynników wzrostu oddziałują na komórki poprzez specyficzne receptory zaliczane do grupy ErbB, o aktywności kinazy tyrozynowej.

Z dostępnej literatury wynika, że receptory dla nabłonkowych czynników wzrostu zlokalizowane są w błonach komórek nabłonkowych oraz w komórkach mezynchymalnych. Odgrywają one istotną rolę w wielu procesach fizjologicznych, jak wzrost i implantacja zarodka, biorą udział w procesach naprawczych dojrzałych i uszkodzonych organów (15, 65). Nadekspresja EGFR jednak może prowadzić do niekontrolowanego podziału komórek, a w konsekwencji rozwoju nowotworu. Wzrost ekspresji EGFR w komórkach nowotworowych stanowi ponadto niekorzystny czynnik prognostyczny leczenia (65).

Głównymi białkami wykazującymi największe powinowactwo do EGFR są EGF i TGF- α (29). EGF ma istotny wpływ na proliferację, różnicowanie, żywotność oraz funkcjonalną aktywność różnego typu komórek zarówno w żywym organizmie, jak i warunkach *in vitro* (9). Ponadto reguluje procesy homeostazy tkankowej. Odnotowuje się też jego istotną rolę w rozwoju stanów patologicznych, obejmujących procesy nowotworzenia (9, 32). Kolejnym głównym ligandem dla receptora EGF jest transformujący czynnik wzrostu α (TGF- α). TGF- α , syntetyzowany jest głównie przez makrofagi, komórki ośrodkowego układu nerwowego oraz keratynocyty. W swojej strukturze wykazuje duże podobieństwo do EGF. Analogiczna budowa trójpierścieniowa, utrzymywana przez mostki dwusiarczkowe warunkuje przynależność czynnika TGF- α do rodziny epidermalnych czynników wzrostu (9). Źródłem tego białka są także komórki endometrialne, łożysko oraz zarodki, natomiast docelowo TGF- α oddziałuje na komórki mezenchymalne i nabłonkowe (27).

Badania obejmujące analizę zmian ekspresji nabłonkowych czynników wzrostu oraz ich receptora przeprowadzono w macicach u kilku gatunków (23, 32, 33, 56, 62). Wykazano istotne różnice w profilu ich ekspresji determinowane zmianami stężenia progesteronu i estrogeny (23, 32, 35). Białka należące do rodziny EGF zaangażowane są w procesy indukcji hormonalnej, działając stymulująco na wzrost komórek macicy (32, 35, 62). Komatsu i wsp. (35) wykazali ich istotny wpływ na proliferację komórek błony śluzowej macicy u myszy. W *endometrium* suk poziom transkrypcji oraz lokalizacja białek TGF- α , jak i EGFR różni się w zależności od fazy cyklu płciowego (32, 62). Podczas *estrus* stwierdzono obecność EGF oraz EGFR zarówno w nabłonku gruczołowym, powierzch-

niowym, zrębie *endometrium*, jak i mięśniach gładkich macicy. Nabłonek światła macicy charakteryzował się wysoką ekspresją EGF oraz jego receptora podczas *estrus*, natomiast najniższy jego poziom notowano w fazie *anestrus*. Wyniki badań Tamada i wsp. (62) sugerują udział TGF- α w procesach regulacji wzrostu, różnicowania oraz regresji komórek nabłonkowych *endometrium* suk. Podczas wczesnej fazy porującej autorzy notowali osłabienie ekspresji TGF- α i EGFR, która nasilała się ponownie w połowie fazy *diestrus*. Natomiast bardzo niski poziom immunoreaktywności TGF- α i EGFR obserwowano u suk w okresie spokoju płciowego (*anestrus*). Podobne wyniki uzyskali również Bukowska i wsp. (6), wykazując podwyższony poziom transkryptu EGF w *endometrium* suk w fazie *estrus* w porównaniu do pozostałych faz cyklu płciowego. Co więcej, białka zaliczane do rodziny EGF oraz ich receptory poprzez swoje silne oddziaływanie mitogenne mogą odgrywać istotną rolę w patogenezie CEH (*Cystic endometrial hyperplasia*). Charakterystyczne zmiany w ekspresji i lokalizacji białek TGF- α , EGF i EGFR w *endometrium* suk dotkniętych CEH-P (*Cystic endometrial hyperplasia – pyometra complex*) oraz w prawidłowym cyklu płciowym wykazał zespół Kida i wsp. (32). Podczas prawidłowego przebiegu cyklu rujowego najwyższy poziom mRNA TGF- α stwierdzano w *proestrus* i ulegał on stopniowemu obniżeniu w kolejnych fazach cyklu. Poziom badanego transkryptu EGFR nie podlegał znaczącym zmianom podczas całego cyklu płciowego suki, natomiast istotny wzrost ekspresji EGF notowano w 35. dniu *diestrus*.

Określenie roli poszczególnych białek rodziny EGF w funkcjonowaniu *endometrium* u suk może przyczynić się nie tylko do opracowania metod skutecznego leczenia, ale i zapobiegać ich rozwojowi poprzez wczesną diagnostykę (32).

Wzmocniona ekspresja EGFR odnotowywana w komórkach nabłonkowych prowadzić może ponadto do niekontrolowanych podziałów komórkowych i jest zjawiskiem charakterystycznym m.in. w przypadkach nowotworów złośliwych macicy (65). TGF- α jest silnym stymulatorem angiogenezy, ułatwiając rozwój nowotworu poprzez stymulowanie tworzenia naczyń krwionośnych bądź proliferację komórek zrębu (12). U kobiet notowano istotnie wyższy poziom ekspresji EGFR, TGF- α w *endometrium* ze zmianami rozrostowymi oraz w przypadku raka błony śluzowej macicy (16).

Czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)

Czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego (VEGF) należy do rodziny białkowych czynników wzrostu biorących udział w tworzeniu sieci naczyń krwionośnych. Jest głównym regulatorem, który aktywuje komórki śródbłónka naczyń poprzez stymulację procesów migracji, proliferacji, dojrzewania oraz hamowania apoptozy (18, 34, 45). Stymulując tworzenie naczyń

krwionośnych oraz zwiększając ich przepuszczalność, odgrywa istotną rolę w regulacji fizjologicznej i patologicznej angiogenezy. Syntetyzowany jest przez wiele typów komórek, do których zalicza się m.in.: komórki śródbłonna, mięśni gładkich, makrofagi, fibroblasty, jak również komórki nowotworowe (34, 51). Jego produkcja stymulowana jest w środowisku o niedostatecznej ilości tlenu, co jest charakterystycznym zjawiskiem dla toczącego się procesu zapalnego czy mikrośrodowiska guza (19, 26, 34). Poza najważniejszą funkcją proangiogenną stwierdza się, iż VEGF aktywuje również enzymy odpowiedzialne za destrukcję macierzy pozakomórkowej. Wpływa on także na migrację makrofagów, indukuje powstawanie białka Bcl-2, które pełni funkcje protekcyjne, chroniąc komórki przed apoptozą (18, 19).

W badaniach obejmujących błonę śluzową maciś ciężarnych odnotowano różnice w ekspresji VEGF zależne od czasu implantacji zarodka. Ekspresja badanych genów wzrastała w pierwszej fazie procesu implantacji, co może być związane z indukcją szczególnych mechanizmów odpowiedzialnych za receptywność maciś podczas adhezji zarodków (5). Podobne wyniki uzyskano u królika i świni, zwiększoną ekspresję czynnika VEGF-A oraz jego receptora w *endometrium* odnotowano w okresie implantacyjnym. Liczne doświadczenia wskazują, że ekspresja tych genów regulowana jest stężeniem hormonów steroidowych produkowanych przez jajnik (4, 50). VEGF stymuluje tworzenie nowych naczyń krwionośnych, jak również zwiększa przepuszczalność już istniejących. Wykazując właściwości mitotyczne, jak też chemotaktyczne aktywnie uczestniczy w ostrych i przewlekłych procesach zapalnych jako cytokina prozapalna (34). Ułatwia tworzenie obrzęku oraz pasaż komórek z krwiobiegu do miejsca objętego stanem zapalnym. Ponadto biorąc udział w angiogenezie oraz przebudowie maciś zewnątrzkomórkowej, stanowi dodatkowe ogniwo, które sprzyja zarówno rozwojowi, jak i utrzymaniu przewlekłych odczynów zapalnych. Wykazano, iż podczas ostrego i przewlekłego procesu zapalnego VEGF z udziałem swoistych receptorów oraz poprzez zwiększenie ekspresji cząsteczek adhezyjnych aktywizuje migracje leukocytów, w tym również neutrofili (66). Najnowsze badania zespołu Sağsöz (53) uwiaryściły zmiany czasowe w lokalizacji pro- i antyangiostycznych czynników w macicach suk podczas poszczególnych faz cyklu płciowego. Za pomocą analiz immunohistochemicznych stwierdzono obecność czynników VEGF zarówno w cytoplazmie, błonie komórkowej nabłonka powierzchniowego oraz gruczołowego *endometrium*, zrębie, jak również w komórkach mięśni gładkich we wszystkich fazach cyklu płciowego. Poziom ekspresji VEGF oraz VEGFR w poszczególnych warstwach ściany maciś był najwyższy podczas fazy *estrus*.

Co więcej, angiogenne czynniki wzrostu, w tym VEGF odgrywają istotną rolę w patofizjologii guzów

maciś u kobiet (61). Cytokina ta stanowi ważny nowotworowy regulator angiogenezy w *endometrium*. VEGF jest jednym z najsilniejszych czynników angiogennych sprzyjających rozwojowi nowych naczyń krwionośnych, tym samym zaangażowany jest w progresję nowotworów zależną od neowaskularyzacji. Wykazano istotny wzrost ekspresji VEGF w raku *endometrium* w odniesieniu do tkanki fizjologicznej (11). Ich działanie obejmuje nieprawidłowy rozwój układu naczyniowego oraz wzrost i przeżywalność mięśniaków.

Aktywność VEGF-A nie ogranicza się jedynie do komórek śródbłonna. Czynniki te wykazuje szerokie spektrum oddziaływania biologicznego na różne typy komórek, przez co może być zaangażowany w różne procesy zapalne, również te związane ze zjawiskiem autoagresji, jak i nadwrażliwością typu alergicznego (34).

Insulinopodobne czynniki wzrostu (Insulin-like Growth Factor, IGF)

Syntetyzowane *de novo* w wielu tkankach organizmu ssaków, insulinopodobne czynniki wzrostu (IGF) stanowią silne mitogeny w mechanizmie sekrecji auto- i parakrynnym (10, 52). Rodzinę IGF tworzą dwa strukturalnie bardzo podobne białka (IGF-I, IGF-II) (37, 52). System oddziaływania IGF oprócz wspomnianych ligandów zasilają ponadto ich dwa receptory błonowe (IGF-IR, -IIR), sześć białek wiążących czynniki IGF (IGFBP 1-6, insulin-like growth factor binding protein) oraz cztery enzymy proteolityczne (IGBP protease) (9, 60). Aktywność białek IGFBP jest istotnym elementem regulującym poziom ekspresji IGF, co stanowi cechę odróżniającą je od pozostałych, omawianych do tej pory czynników wzrostu. Stwierdzone również w maciś, indukują rozrost *endometrium* oraz rozwój łożyska. W konsekwencji warunkują prawidłową implantację oraz dalszy rozwój zarodka (17, 28). Lokalizacja receptorów IGF w maciś powiązana jest z funkcją, jaką pełnią w tym organie, a ich koncentracja uzależniona jest od fazy cyklu płciowego. Obecne w nabłonku gruczołowym, brodawkach macicznych i warstwie mięśniowej u przeżuwaczy, kontrolują czynności wydzielnicze *endometrium*. Wykazują także miogenny wpływ na komórki matki i płodu (17, 37, 48). Oddziałując bezpośrednio na sam zarodek, pobudzają metabolizm komórkowy, wzrost i różnicowanie, a także hamują procesy apoptozy zarodkowej (36, 37). W hodowlach *in vitro* zarodków ludzkich, bydłowych i mysich dodanie czynnika IGF-I blokuje działania kaspaz w obrębie komórki, co znacznie ogranicza zachodzące w nich procesy apoptotyczne (37). Jednym z efektów aktywności IGF jest intensyfikacja pobierania substancji odżywczych przez zarodek, co umożliwia jego prawidłowy rozwój do stadium blastocysty (63). Co więcej, wykazano, iż IGF wpływa stymulująco na procesy proliferacji i różnicowania komórek zarodka w okresie przedimplantacyjnym (4). U myszy

Ryc. 1. Wpływ wybranych czynników wzrostu: EGF, IGF, TGF- β , VEGF na prawidłowe funkcjonowanie *endometrium* oraz proces implantacji zarodka

Objaśnienia: Sumaryczne zilustrowanie miejsca syntezy oraz oddziaływania EGF (nabłonkowe czynniki wzrostu), IGF (insulinopodobne czynniki wzrostu), TGF- β (transformujące czynniki wzrostu beta) oraz VEGF (czynniki wzrostu śródbłonna naczyniowego) w błonie śluzowej macicy oraz zarodka

ekspresja IGF-I nabłonku macicy indukowana jest przez estradiol, podczas gdy progesteron odpowiada za jego ekspresję w zrębie błony śluzowej macicy. Myszy pozbawione genu kodującego IGF-I wykazywały znaczną hipoplazję macicy. Niedostępność IGF-I w macicy spowodowała, że samice były niepłodne, nie przejawiając cykli płciowych nawet po stymulacji gonadotropinami (44). Natomiast u szczurów, u których przeprowadzono zabieg usunięcia jajników, podanie egzogenego IGF-I powodowało rozrost *endometrium* (10). Mize i wsp. (43) podczas analiz immunohistochemicznych wykazali, iż ekspresja IGF-I w macicy szczurów podczas cyklu płciowego i wczesnej ciąży zależna jest od dostępności E2 oraz P4. Podczas cyklu płciowego u kobiet, IGF-I pośredniczy w zależności od estrogenu rozbudowie *endometrium* podczas fazy proliferacyjnej, natomiast podczas fazy wydzielniczej odnotowano udział IGF-II w powiązaniu z progesteronem (44, 48, 52). Ponadto, obie izoformy IGF wykazują mitogenne działanie w doczesnych komórkach zrębu *endometrium* (24, 52). W przypadku świni wykazano, że zarówno estradiol, jak i progesteron indukują syntezę IGF-I w *endometrium*, jednak żaden z nich nie wpływa na wzrost syntezy IGF-II w macicy (37).

Obniżoną ekspresję transkryptu IGF-I oraz wzrost poziomu IGFBP-I notowano u kobiet z przewlekłym

zapaleniem błony śluzowej macicy, co potwierdza niekorzystny wpływ schorzenia na prawidłowy proces implantacji i rozwoju zarodka (48). Co więcej, jak wskazują dostępne dane literaturowe, rozwój niektórych nowotworów macicy jest również dodatnio skorelowany z miejscową nadekspresją IGF (9, 14, 52). Istotny wzrost ekspresji IGF-I rozpoczyna się w fazie pęcherzykowej jajnika, jak również na etapie wczesnej ciąży. Potwierdza to zatem tezę, iż czynnik ten odgrywa znaczącą rolę w prawidłowym funkcjonowaniu macicy i rozwoju embrionalnym (37).

Niewiele wiadomo także na temat udziału oraz stopnia zaangażowania czynników IGF w patogenezę zespołu *endometritis – pyometra* u suk. IGF-I znany jako potencjalny stymulator proliferacji błony śluzowej macicy, identyfikowany jest w zwiększonych ilościach podczas rozwoju torbielowatego rozrostu gruczołów *endometrium* u suk. De Cock i wsp. (10) wnioskują, iż w tym przypadku wysoka ekspresja IGF-I wiąże się z podwyższonym poziomem zarówno progesteronu, jak i estradiolu we krwi suk z CEH. Znaczący wzrost ekspresji cytoplazmatycznego IGF-I stwierdzono w nabłonku powierzchniowym oraz gruczołowym *endometrium* oraz w zrębie macicy u suk z tym schorzeniem w odniesieniu do macic prawidłowych. Przeprowadzone przez cytowanych autorów badania

immunohistochemiczne pozwoliły określić prawdopodobny współdział omawianych czynników oraz hormonów pochodzenia jajnikowego w etiopatogenezie CEH (10). Wysoka koncentracja IGF-I wokół komórek nabłonkowych macicy u suk z CEH może odgrywać istotną rolę w rozwoju tej patologii, prowadząc do niekontrolowanego rozrostu gruczołów endometrialnych. U suk poddanych ovariectomii podczas fazy lutealnej obserwowano zmniejszoną sekrecję zarówno IGF-I, jak i GH (hormon wzrostu) z komórek gruczołu sutkowego oraz spadek ich poziomu we krwi. Zmiany te spowodowane były gwałtownym obniżeniem progesteronu, co wynikało z braku jajników, natomiast odnotowano wzrost poziomu prolaktyny (37, 39). Obserwowane zjawisko stanowi charakterystyczny obraz notowany także podczas ciąży urojonej u suk (37).

Podsumowanie

Czynniki wzrostowe, do których zalicza się m.in. transformujące, nabłonkowe, insulinopodobne oraz naczyniowo-śródbłonkowe czynniki wzrostu, mogą odgrywać centralną rolę w powstawaniu i rozwoju patologii układu rozrodczego samic. Na drodze auto- i parakrynną wpływają na cykle mitotyczne, biorą udział w procesach różnicowania komórek endometrialnych, interakcjach *endometrium*–trofoblast, wczesnych etapach utrzymania ciąży, łuszczeniu tkanki przy braku implantacji oraz w funkcjonalnych procesach regeneracyjnych *endometrium* (ryc. 1). Ponadto zaburzenia w poziomie ekspresji czynników wzrostu oraz ich receptorów mogą przyczyniać się do rozwoju wielu typów nowotworów.

Analiza zmian profilu ekspresji omawianych czynników w tkance prawidłowej oraz patologicznej, o różnym stopniu zaawansowania procesu chorobowego, pozwoliłaby na wytypowanie czułych wskaźników diagnostycznych. Opracowanie tego typu markerów tkankowych w istotny sposób przyczyniłoby się do udoskonalenia metod diagnostycznych stosowanych w terapii schorzeń układu rozrodczego samic.

Piśmiennictwo

- Antosik P., Kempisty B., Jackowska M., Bukowska D., Woźna M., Lianeri M., Brüßow K. P., Jaśkowski J. M.: Differential expression of genes encoding EGF, IGF-I and TGF β 1, β 2 and β 3 in porcine endometrium during estrus cycle in different age. *Med. Weter.* 2010, 66, 618-621.
- Blitek A., Morawska-Pucinska E., Szymanska M., Kiewisz J., Waclawik A.: Effect of conceptus on transforming growth factor (TGF) β 1 mRNA expression and protein concentration in the porcine endometrium-in vivo and in vitro studies. *J. Reprod. Dev.* 2013, 59, 512-519.
- Blobe G. C., Schiemann W. P., Lodish H. F.: Role of transforming growth factor beta in human disease. *N. Engl. J. Med.* 2000, 342, 1350-1358.
- Bukowska D., Kempisty B., Ciesiółka S., Piotrowska H., Antosik P., Jaśkowski J. M., Nowicki M.: Role of hormones and growth factors in implantation of embryo in mammals. *Med. Weter.* 2014, 70, 157-160.
- Bukowska D., Kempisty B., Jackowska M., Woźna M., Antosik P., Piotrowska H., Jaśkowski J. M.: Analysis of integrins and vascular endothelial growth factor isoforms mRNA expression in the canine uterus during perimplantation period. *Pol. J. Vet. Sci.* 2011, 14, 253-258.
- Bukowska D., Kempisty B., Jackowska M., Woźna M., Antosik P., Piotrowska H., Jaśkowski J. M.: Differential expression of epidermal growth factor and transforming growth factor beta isoforms in dog endometrium during different periods of the estrus cycle. *Pol. J. Vet. Sci.* 2011, 14, 259-264.
- Caron P. L., Fréchette-Frigon G., Shooner C., Leblanc V., Asselin E.: Transforming growth factor beta isoforms regulation of Akt activity and XIAP levels in rat endometrium during estrous cycle, in a model of pseudopregnancy and in cultured decidual cells. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2009, 7, 80.
- Christ M., McCartney-Francis N. L., Kulkarni A. B., Ward J. M., Mizel D. E., Mackall C. L., Gress R. E., Hines K. L., Tian H., Karlsson S. et al.: Immune dysregulation in TGF-beta 1-deficient mice. *J. Immunol.* 1994, 153, 1936-1946.
- Ciarmela P., Islam M. S., Reis F. M., Gray P. C., Bloise E., Petraglia F., Vale W., Castellucci M.: Growth factors and myometrium: biological effects in uterine fibroid and possible clinical implications. *Hum. Reprod. Update* 2011, 17, 772-790.
- Cock H. de, Ducatelle R., Tilmant K., De Schepper J.: Possible role for insulin-like growth factor-I in the pathogenesis of cystic endometrial hyperplasia pyometra complex in the bitch. *Theriogenology* 2002, 57, 2271-2287.
- Dai H., Zhao S., Xu L., Chen A., Dai S.: Expression of Efr, VEGF and bFGF in normal, hyperplastic and malignant endometrial tissue. *Oncol. Rep.* 2010, 23, 795-799.
- Davies D. E., Chmberlin S. G.: Targeting the epidermal growth factor receptor for therapy of carcinomas. *Biochem. Pharmacol.* 1996, 51, 1101-1110.
- Dekel N., Gnainsky Y., Granot I., Mor G.: Inflammation and implantation. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2010, 63, 17-21.
- Dolka L., Malicka E., Motyl T., Sapieryński R.: IGF-I i inne czynniki wzrostu w nowotworach gruczołu sutkowego u psów i ludzi ich rola w nowotworzeniu oraz znaczenie rokownicze. *Med. Weter.* 2010, 66, 745-750.
- Edwin F., Wiep G. J., Singh R., Peet C. R., Chaturvedi D., Bertics P. J., Patel T. B.: A historical perspective of the EGF receptor and related systems. *Methods. Mol. Bio.* 2006, 327, 1-24.
- Ejlskjær K., Sørensen B. S., Poulsen S. S., Forman A., Nexø E., Mogensen O.: Expression of the epidermal growth factor system in endometrioid endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.* 2007, 104, 158-167.
- Fabian D., Koppel J., Maddox-Hyttel P.: Apoptotic processes during mammalian preimplantation development. *Theriogenology* 2005, 64, 221-231.
- Ferrara N.: Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2001, 280, 1358-1366.
- Flak B., Wawrzyniec K., Kwiatek S., Kawczyk-Krupka A., Czuba Z., Sieroń-Stoltny K., Sieroń A.: Czynniki wzrostu śródbłonki naczyń (VEGF) jako marker progresji choroby nowotworowej – przegląd doniesień. *Acta Bio.-Opt. Inf. Med.* 2013, 4, 205-209.
- Flanders K. C., Burmester J. K.: Medical applications of TGF-b. *Clin. Med. Res.* 2003, 1, 13-20.
- Gama A., Gärtner F., Alves A., Schmitt F.: Immunohistochemical expression of Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) in canine mammary tissues. *Res. Vet. Sci.* 2009, 87, 432-437.
- Gao Y., Li S., Li Q.: Uterine epithelial cell proliferation and endometrial hyperplasia: evidence from a mouse model. *Mol. Hum. Reprod.* 2014, 20, 776-786.
- Gerstenberg C., Allen W. R., Stewart F.: Factors controlling epidermal growth factor (EGF) gene expression in the endometrium of the mare. *Mol. Reprod. Dev.* 1999, 53, 255-265.
- Giudice L. C.: Growth factors and growth modulators in human uterine endometrium: their potential relevance to reproductive medicine. *Fertil. Steril.* 1994, 61, 1-17.
- Godkin J. D., Doré J. J.: Transforming growth factor beta and the endometrium. *Rev. Reprod.* 1998, 3, 1-6.
- Gomułka K., Liebhart J.: Czynniki wzrostu śródbłonki naczyniowej – struktura, funkcje oraz rola w zapaleniu oskrzeli i przebiegu klinicznym astmy. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2009, 77, 549-553.
- Goustin A. S., Leof E. B., Shipley G. D., Moses H. L.: Growth Factors and Cancer. *Cancer Research* 1986, 46, 1015-1029.
- Hull K. L., Harvey S.: Growth hormone: roles in female reproduction. *J. Endocrinol.* 2001, 168, 1-23.
- Hynes N. E., Horsch K., Olayioye M. A., Badache A.: The ErbB receptor tyrosine family as signal integrators. *Endocr. Relat. Cancer* 2001, 8, 151-159.
- Jones R. L., Stoikos C., Findlay J. K., Salamonsen L. A.: TGF-beta superfamily expression and actions in the endometrium and placenta. *Reproduction* 2006, 132, 217-232.
- Kajdaniuk D., Marek B., Borgiel-Marek H., Kos-Kudła B.: Transforming growth factor β 1 (TGF β 1) in physiology and pathology. *Endokrynol. Pol.* 2013, 64, 384-396.
- Kida K., Maezono Y., Kawate N., Inaba T., Hatoya S., Tamada H.: Epidermal growth factor, transforming growth factor-alpha, and epidermal growth factor receptor expression and localization in the canine endometrium during the estrous cycle and in bitches with pyometra. *Theriogenology* 2010, 73, 36-47.
- Kim Y. J., Lee G. S., Hyun S. H., Ka H. H., Choi K. C., Lee C. K., Jeung E. B.: Uterine expression of epidermal growth factor family during the course of pregnancy in pigs. *Reprod. Domest. Anim.* 2009, 44, 797-804.

34. Koczy-Baron E., Kasperska-Zajac A.: Rola naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu w procesach zapalnych. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2014, 68, 57-65.
35. Komatsu N., Maekawa T., Takeuchi S., Takahashi S.: Epidermal growth factor and transforming growth factor- α stimulate the proliferation of mouse uterine stromal cells. *Zool. Sci.* 2003, 20, 639-645.
36. Koojman R.: Regulation of apoptosis by insulin-like growth factor (IGF)-I. *Cytokine* 2006, 17, 305-323.
37. Krakowski L., Obara J., Wrona Z.: Rola insulinopodobnych czynników wzrostu na funkcje rozrodcze samic. *Med. Weter.* 2008, 64, 1091-1094.
38. Krzemiński S., Knapczyk P.: Aktualne poglądy dotyczące znaczenia transformującego czynnika wzrostu beta (TGF- β) w patogenezie niektórych stanów chorobowych. *Wiad. Lek.* 2005, 58, 536-539.
39. Lee W. M., Kooistra H. S., Mol J. A., Dieleman S. J., Schaeffers-Okkens A. C.: Ovariectomy during the luteal phase influences secretion of prolactin, growth hormone, and insulin-like growth factor-I in the bitch. *Theriogenology* 2006, 15, 484-490.
40. Li Q.: Transforming growth factor β signaling in uterine development and function. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 2014, 5, 52.
41. Loverro G., Maiorano E., Napoli A., Selvaggi L., Marra E., Perlino E.: Transforming growth factor- β 1 and insulin-like growth factor-I expression in ovarian endometriotic cysts: a preliminary study. *Int. J. Mol. Med.* 2001, 7, 423-429.
42. Massague J.: TGF- β signalling in context. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2012, 13, 616-630.
43. Mize D., Saikia P. J., Sarma H. N.: Expression of insulin-like growth factor-I in uterus is ovarian steroid dependent: an in situ immunohistochemical study in rat. *Reprod. Contracept.* 2012, 23, 222-236.
44. Moyano P., Rotwein P.: Mini-review: estrogen action in the uterus and insulin-like growth factor-I. *Growth Horm. IGF Res.* 2004, 14, 431-435.
45. Neufeld G., Cohen T., Gengrinovitch S., Poltorak Z.: Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J.* 1999, 13, 9-22.
46. Omwandho C. O., Konrad L., Halis G., Oehmke F., Tinneberg H. R.: Role of TGF- β s in normal human endometrium and endometriosis. *Hum. Reprod.* 2010, 25, 101-109.
47. Payan-Carreira R., Pires M. A., Ström Holst B., Rodriguez-Martinez H.: Tumour necrosis factor in the canine endometrium: an immunohistochemical study. *Reprod. Domest. Anim.* 2011, 46, 410-418.
48. Pietro C. di, Cicinelli E., Guglielmino M. R., Ragusa M., Farina M., Palumbo M. A., Cianci A.: Altered transcriptional regulation of cytokines, growth factors, and apoptotic proteins in the endometrium of infertile women with chronic endometritis. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2013, 69, 509-517.
49. Polli V., Bulletti C., Galassi A., Borini A., Ciotti P. M., Seracchioli R., Alfieri S., Flamigni C.: Transforming growth factor- β 1 in the human endometrium. *Gynecol. Endocrinol.* 1996, 10, 297-302.
50. Postek A., Chruściel M., Andronowska A.: Lokalizacja i ekspresja VEGF-A i jego receptorów: VEGFR-1 i VEGFR-2 w naczyniach chłonnych VSP więzadła szerokiego macicy świni. *Med. Weter.* 2008, 64, 592-596.
51. Robak E., Gerlicz Z.: Wybrane cytokiny proangiogenne w twardzinie układowej. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2014, 68, 1472-1484.
52. Rutanen E. M.: Insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding proteins in the endometrium. Effect of intrauterine levonorgestrel delivery. *Hum. Reprod.* 2000, 15, 173-181.
53. Sağsöz H., Liman N., Küçükaslan I., Saruhan B. G.: Immunolocalization of vascular endothelial growth factor, its receptors (flt1/fms, flk1/KDR, flt4) and vascular endothelial growth inhibitor in the bitch uterus during the sexual cycle. *Anim. Reprod. Sci.* 2013, 140, 241-254.
54. Sağsöz H., Liman N., Saruhan B. G., Küçükaslan I.: The expression of epidermal growth factor receptors and their ligands (epidermal growth factor, neuregulin, amphiregulin) in the bitch uterus during the estrus cycle. *Anim. Reprod. Sci.* 2014, 147, 161-179.
55. Sambueli A., Diez R. A., Sugai E., Boerr L., Negreira S., Gil A., Camartino G., Huernos S., Doldán I., Felstiner D., Bai J. C.: Serum transforming growth factor β 1 levels increase in response to successful anti-inflammatory therapy in ulcerative colitis. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2000, 14, 1443-1449.
56. Schäfer-Somi S., Sabitzer S., Klein D., Reinbacher E., Kanca H., Beceriklisoy H. B., Aksoy O. A., Kucukaslan I., Macun H. C., Aslan S.: Vascular endothelial (VEGF) and epithelial growth factor (EGF) as well as platelet-activating factor (PAF) and receptors are expressed in the early pregnant canine uterus. *Reprod. Dom. Anim.* 2013, 48, 20-26.
57. Sieja K.: Czynniki wzrostowe jako stymulatory biologiczne w gruczołach pierśowych. *Ginek. Prakt.* 2004, 12, 45-48.
58. Singh M., Chaudhry P., Asselin E.: Bridging endometrial receptivity and implantation: network of hormones, cytokines, and growth factors. *J. Endocrinol.* 2011, 210, 5-14.
59. Stępień-Wyrobiec O., Hrycek A., Wyrobiec G.: Transformujący czynnik wzrostu β (TGF- β) – budowa, mechanizmy oddziaływania oraz jego rola w patogenezie tocznia rumieniowatego układowego. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2008, 62, 688-693.
60. Suwała A., Ziara K., Landowska D.: Budowa i funkcja insulinopodobnych czynników wzrostowych oraz objawy kliniczne niedoboru IGF-1. *Endokrynol. Ped.* 2010, 3, 447-461.
61. Tal R., Segars J. H.: The role of angiogenic factors in fibroid pathogenesis: potential implications for future therapy. *Hum. Reprod. Update* 2014, 20, 194-216.
62. Tamada H., Tominaga M., Kida K., Kawate N., Inaba T., Matsuyama S., Sawada T.: Detection of transforming growth factor- α and epidermal growth factor receptor mRNA and immunohistochemical localization of the corresponding proteins in the canine uterus during the estrous cycle. *Histol. Histopathol.* 2005, 20, 817-824.
63. Tamura K., Hara T., Kutsukake M., Iwatsuki K., Yanagida M., Yoshie M., Kogo H.: Expression and the biological activities of insulin-like growth factor-binding protein related protein 1 in rat uterus during the periimplantation period. *Endocrinology* 2004, 145, 5243-5251.
64. Wakefield L. M., Hill C. S.: Beyond TGF β : roles of other TGF β superfamily members in cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2013, 13, 328-341.
65. Wojtukiewicz M. Z., Rybaltowski M., Sierko E.: Podstawy biologiczne terapii ukierunkowanej na receptor czynnika wzrostu naskórka (EGFR). *Nowotwory* 2008, 58, 260-271.
66. Zittermann S. I., Issekutz A. C.: Endothelial growth factors VEGF and bFGF differentially enhance monocyte and neutrophil recruitment to inflammation. *J. Leukoc. Biol.* 2006, 80, 247-257.

Adres autora: dr Magdalena Woźna, ul. Wołyńska 35, 60-637 Poznań;
e-mail: magda.wozna@wp.pl