

# Interakcje zarodek–endometrium podczas matczynego rozpoznania ciąży u świni

AGNIESZKA BLITEK, MONIKA M. KACZMAREK, AGNIESZKA WACŁAWIK, JOLANTA KIEWISZ\*), ANNA E. KOWALCZYK, ADAM J. ZIĘCIK

Zakład Mechanizmów Działania Hormonów Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn

Blitek A., Kaczmarek M. M., Wacławik A., Kiewisz J., Kowalczyk A. E., Zięćik A. J.  
**Embryo-uterine interactions during maternal recognition of pregnancy in pigs**

## Summary

Embryo implantation in domestic animals is a highly coordinated process requiring synchronized dialogue between maternal and embryonic tissues. Successful implantation depends on two important factors: embryo quality and endometrial receptivity, which are necessary for adhesion, attachment and further placentation. Impaired endometrial receptivity is one of the major reasons for early embryonic mortality in pigs. Therefore, the identification of biological markers of endometrial receptivity may have a prominent clinical as well as economic significance. This review will focus on the crucial events occurring before and during embryo elongation in the uterine lumen and maternal recognition of pregnancy in pigs.

**Keywords:** maternal recognition of pregnancy, estrogens, prostaglandins, cytokines, pig

Jednym ze sposobów zwiększenia wydajności produkcji trzody chlewnej jest poprawa i utrzymanie odpowiedniej wielkości miotu. U świni największą śmiertelność zarodków obserwuje się pomiędzy 10. a 30. dniem ciąży (15). Nie jest to rzeczą zaskakującą, zważywszy na istotne dla ustanowienia ciąży procesy, jakie mają miejsce w tym okresie w macicy (ryc. 1). Przyczyny nieskutecznych implantacji leżą zarówno po stronie zarodka (np. czynniki genetyczne, brak sygnalizacji zarodkowej), jak i macicy (np. *endometrium* nie osiągnęło stanu „receptywności”). Dlatego też wiedza na temat wzajemnych interakcji pomiędzy zarodkiem a macicą w okresie tzw. matczynego rozpoznania ciąży i w czasie implantacji oraz poznanie zarodkowych i macicznych czynników wpływających na rozwój i przetrwanie zarodka w tym okresie mogą przyczynić się do poprawy wydajności produkcji trzody chlewnej. Ponadto określenie molekularnych sygnałów związanych z implantacją może umożliwić opracowanie strategii, które zapobiegałyby odrzuceniu przez organizm matki (biorca) zarodków pochodzących od innego osobnika (dawca) bądź takich, które zmodyfikowano genetycznie do transplatacji.

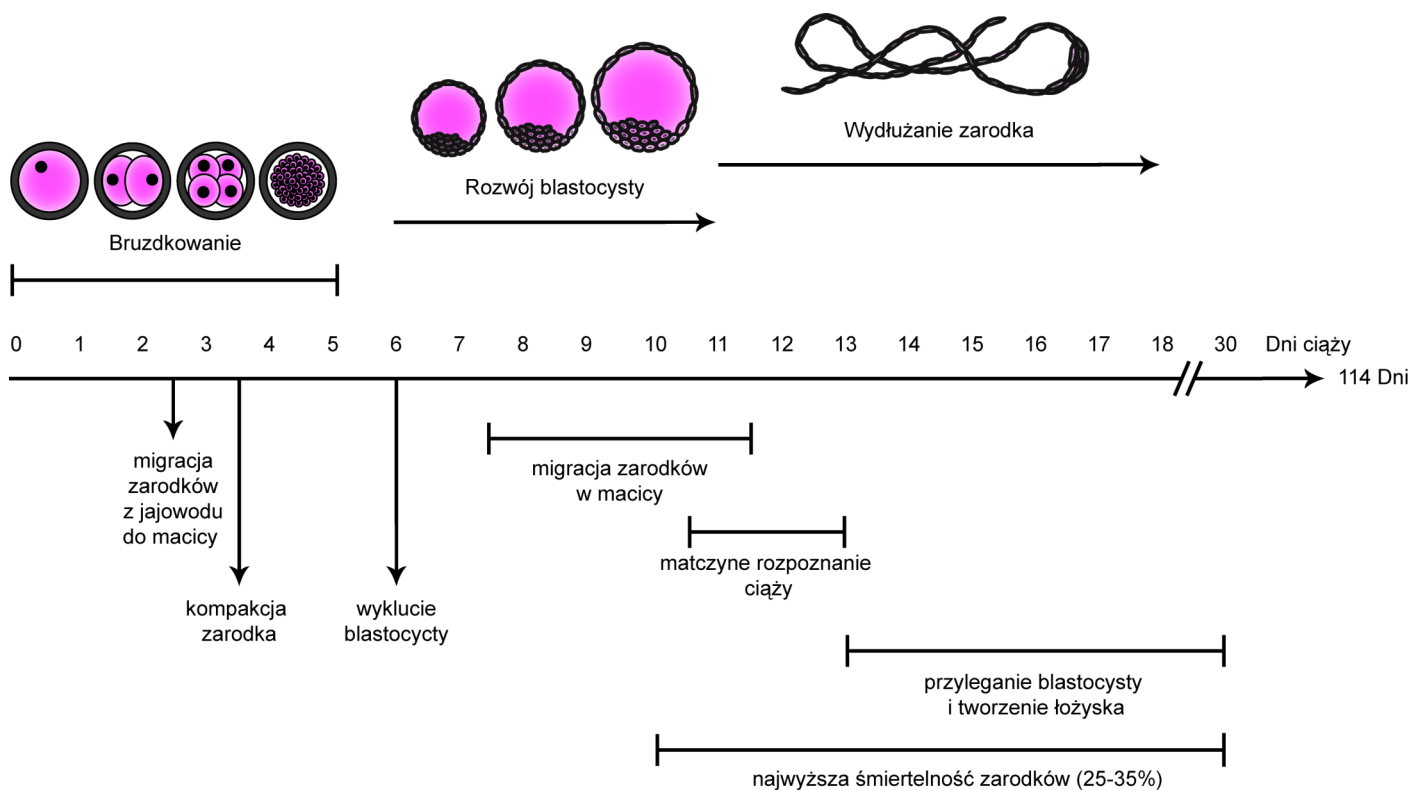
Kluczowe znaczenie dla przebiegu implantacji ma zsynchronizowanie rozwoju zarodka z jednej strony i osiągnięcie przez macicę stanu „receptywności” z drugiej strony. Następstwem tej synchronizacji jest zainicjowanie dwustronnej „współpracy” pomiędzy aktyw-

ną blastocystą a nabłonkiem powierzchniowym macicy. Do chwili obecnej nie jest dokładnie poznana sekwencja zdarzeń zachodzących na poziomie komórkowym i molekularnym. W niniejszym artykule przeglądowym zebrane zostały dostępne w literaturze teorie na temat pierwszych interakcji pomiędzy zarodkiem a organizmem matki, określanych jako matczynie rozpoznanie ciąży oraz zmian w *endometrium* we wczesnym etapie implantacji.

## Faza przedreceptywna endometrium

U ssaków implantacja zachodzi w ściśle określonym czasie cyklu rujowego, kiedy *endometrium* staje się „receptywne”, co oznacza gotowość tej tkanki na odebranie sygnałów wysyłanych przez zarodek, jak i przyjęcie samego zarodka. U zwierząt gospodarskich osiągnięcie przez macicę stanu receptywności jest kontrolowane przez steroidy jajnikowe i poprzedzone zostaje odpowiednio długim okresem przygotowawczym. U świni przejście ze stanu przedreceptywnego (pre-receptive stage) w receptywny charakteryzuje się obniżeniem ekspresji glikoproteiny mucyny-1 (Muc-1) na powierzchni komórek nabłonkowych *endometrium*. Białko to wydaje się mieć właściwości antyadhezyjne, przysłaniając niejako ekspresję cząsteczek adhezyjnych (m.in. integryn i cząsteczek macierzy zewnątrzkomórkowej) na powierzchni komórek nabłonkowych. Barwienia immunohistochemiczne wykazały silną ekspresję Muc-1 w nabłonku błony śluzowej

\*) Stypendystka Prezesa PAN.



Ryc. 1. Schemat przedstawiający najważniejsze wydarzenia charakteryzujące okres wczesnej ciąży u świń

w dniach 0 (1. dzień rui) i 4. cyklu rujowego, słabą ekspresję w dniu 8., a jej brak w dniach 10.-15. zarówno cyklu rujowego, jak i ciąży. Intensywność występowania Muc-1 była odwrotnie skorelowana z zawartością progesteronu we krwi obwodowej (6). Ponadto u świń osiągnięcie receptywności wiąże się ze stopniowym zanikiem receptorów progesteronowych w nabłonku powierzchniowym i gruczołowym *endometrium* obserwowanym w dniach 7.-10. i całkowitym ich brakiem po dniu 12. od owulacji (14). Ekspresja tych receptorów utrzymuje się w komórkach zrębu *endometrium* i to one są pośrednikiem we wpływie progesteronu na funkcjonowanie komórek nabłonkowych podczas implantacji. Spadek ekspresji zarówno Muc-1, jak i receptorów progesteronowych w okresie przedimplantacyjnym zachodzi bez udziału zarodka i jest wyrazem gotowości macicy na przyjęcie sygnałów zarodkowych. A samo białko Muc-1 określa się mianem markera przedreceptywności macicy u świń.

### Rozwój zarodka i synteza estrogenów

U świń migracja zarodków w obrębie rogów macicy zachodzi w dniach 8.-11. ciąży (15) (ryc. 1). Aby zasygnalizować swoją obecność w macicy, rozwijające się zarodki zaczynają produkować i uwalniać estrogeny. Podwyższony poziom tych hormonów obserwuje się w dniach 11.-12. po owulacji (4). W tym czasie zmienia się wielkość i morfologia zarodka – z kulistej (o średnicy 1-2 mm) w cylindryczną (o długości 9-20 mm), by następnie w ciągu 2-3 godzin wydłużyć się do ponad 100 mm. Ten gwałtowny rozwój zarod-

ków, po którym następuje proces przylegania trofoblastu do powierzchni *endometrium*, jest momentem krytycznym dla utrzymania ciąży (15). Drugi okres wzmożonej produkcji estrogenów zarodkowych ma miejsce w dniach od 15. do 25.-30. po zapłodnieniu (4) i jest konieczny dla podtrzymania funkcji ciałek żółtych (CL). Uwalnianie estrogenów przez zarodek jest powiązane w czasie z ekspresją receptorów estrogenowych w *endometrium* (15).

Dalsze zmiany, jakie zachodzą w obrębie *endometrium*, jak również w samym zarodku są następstwem działania estrogenów uwalnianych przez zarodek, a obejmują m.in. zmiany właściwości sekrecyjnych *endometrium*, zwiększenie przepływu krwi i przepuszczalności naczyń, jak również zmiany morfologiczne komórek nabłonka powierzchniowego.

### Prostaglandyny

Synteza prostaglandyn (PG) jest istotna dla ustanowienia ciąży u świń, gdyż jej zahamowanie prowadzi do utraty ciąży (21). Sugeruje się, iż wzajemny stosunek luteotropowej  $PGE_2$  do luteolitycznej  $PGF_{2\alpha}$  wpływa na czynność CL, przepływ krwi i przepuszczalność naczyń w macicy oraz rozwój zarodka i implantację (9). Ponieważ ilość produkowanej w *endometrium*  $PGF_{2\alpha}$  nie obniża się istotnie podczas wczesnej ciąży, zmiana kierunku sekrecji  $PGF_{2\alpha}$  z endokrynnego na egzokrynną stała się podstawą teorii matczynej rozpoznania ciąży. Autorzy tej teorii sugerowali, iż u świń pod wpływem estrogenów zarodkowych  $PGF_{2\alpha}$  uwalniana jest do światła macicy, zamiast do krążenia żył-

nego, jak to ma miejsce w czasie cyklu rujowego (3). Według nowszej teorii (22), podczas ciąży  $\text{PGF}_{2\alpha}$  jest wychwytywana w obrębie więzadła szerokiego i transportowana zwrotnie do światła macicy.

Luteotropowo-antylyuteolityczny wpływ  $\text{PGE}_2$  jest powszechnie znany (31), a szczyt uwalniania tej prostaglandyny obserwowany jest w 11.-12. dniu po zapłodnieniu (7). Profil sekrecji  $\text{PGE}_2$  pokrywa się z podwyższoną zawartością mPGES-1 (syntaza  $\text{PGE}_2$ ) oraz zahamowaniem ekspresji białka 9-ketoreduktazy  $\text{PGE}_2$  (CBR1; przekształca  $\text{PGE}_2$  do  $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) w *endometrium* w 10.-11. dniu ciąży (29, 30). Ponadto wysoka zawartość mPGES-1 oraz niska ekspresja PGFS (syntaza  $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) i CBR1 w 10-13-dniowych zarodkach może odgrywać istotną rolę we wzroście stosunku  $\text{PGE}_2/\text{PGF}_{2\alpha}$  podczas maczyznego rozpoznania ciąży (30).

### Zmiana przepływu krwi i przepuszczalności naczyń

Jedną z pierwszych reakcji na estrogeny produkowane przez zarodek jest zwiększony przepływ krwi w macicy. U świń zjawisko to obserwuje się między 11. a 13. dniem ciąży, gdy ilość krwi napływającej do macicy znacznie przewyższa wykazaną podczas cyklu (12). Uważa się, że zwiększony napływ krwi do macicy wspomaga syntezę PG w *endometrium*, a w następstwie również funkcję ciążowego CL. Ponadto wczesne etapy implantacji charakteryzuje zwiększona przepuszczalność naczyń kapilarnych w *endometrium*, która jest niezbędna do wzrostu i przebudowy tkanek oraz tworzenia łożyska (10). U świń w 12.-13. dniu ciąży zwiększonej przepuszczalności naczyń krwionośnych *endometrium* towarzyszyło zmniejszenie grubości oraz liczne rozluźnienia ścian naczyń tworzące pory zlokalizowane głównie od strony nabłonka powierzchniowego (19). Brak podobnych zmian u zwierząt, u których proces przylegania trofoblastu nie został jeszcze zainicjowany oraz u zwierząt cyklicznych, świadczą o lokalnych morfologicznych zmianach struktury naczyń kapilarnych zachodzących pod wpływem sygnałów zarodkowych.

W tym okresie zaobserwowano również podwyższoną zawartość czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF), zwłaszcza VEGF 164, w *endometrium* świni (17), którego profil ekspresji zgodny jest z profilem uwalniania estradiolu przez zarodek (4). VEGF jest kluczowym czynnikiem stymulującym angiogenezę i przepuszczalność naczyń krwionośnych (11). VEGF 164 uważany jest za jeden z podstawowych mediatorów zwiększonej przepuszczalności naczyń krwionośnych u gryzoni (16), u których zablokowanie aktywności VEGF w okresie implantacji zarodka prowadzi do zahamowania ciąży (24). Ze względu na obserwowaną u świni korelację między podwyższoną ekspresją VEGF i zwiększoną przepuszczalnością naczyń krwionośnych w 12.-13. dniu ciąży (17, 19), prawdopodobne jest, że również u tego gatunku VEGF odgrywa kluczową rolę w okresie okołimplantacyjnym.

### Cytokiny

Cytokiny pełnią rolę immunomodulacyjną, wpływając na intensywność i czas trwania odpowiedzi immunologicznej. Ponieważ cytokiny regulują także wzrost, aktywację, proliferację i różnicowanie komórek, uważa się, iż odgrywają istotną rolę w dialogu między organizmem matki a zarodkiem.

**Interleukina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )** jest cytokiną prozapalną, wytwarzaną głównie przez monocyty, makrofagi tkankowe i komórki śródbłonna naczyń. Zwiększoną zawartość tej cytokiny w świetle macicy świni wykazano w dniach 11.-12. ciąży, lecz nie cyklu rujowego. Towarzyszyła temu wysoka ekspresja genu IL-1 $\beta$  w zarodkach podczas ich wydłużania, co sugeruje, że są one głównym źródłem IL-1 $\beta$  przed implantacją. Ekspresja genu IL-1 $\beta$  w zarodku oraz jej zawartość w świetle macicy spada po zakończeniu wydłużania trofoblastu, a w dniach 15. i 18. jest bardzo niska (26).

Działanie efektorowe IL-1 $\beta$  odbywa się głównie za pośrednictwem receptora IL-1 $\beta$  typu I oraz IL-1RAP. U świni najwyższą ekspresję zarówno receptora IL-1 $\beta$  typu I, jak i IL-1RAP w *endometrium* obserwowano w dniu 12. po zapłodnieniu. Obecność mRNA dla receptora IL-1 $\beta$  oraz IL-1RAP stwierdzono również w zarodkach, przy czym podwyższoną zawartość wykazywały formy nitkowate z 11. dnia ciąży. Natomiast ekspresja genu IL-1RAP wzrastała podczas procesu wydłużania zarodka i osiągnęła swój najwyższy poziom w 15. dniu ciąży (26).

IL-1 $\beta$  uczestniczy prawdopodobnie w procesach związanych z adhezją komórek i stymulacją produkcji innych cytokin podczas wczesnej ciąży. Sugeruje się też, że IL-1 $\beta$  bierze udział w procesie wydłużania trofoblastu (26). Ponadto IL-1 $\beta$  stymuluje fosfolipazę  $A_2$  (20), regulując w ten sposób uwalnianie kwasu arachidonowego z błon komórkowych oraz zwiększając ich płynność. Jest to niezbędne podczas przebudowy tkanki zarodka w trakcie jego gwałtownego wydłużania w 11. dniu ciąży oraz przyczynia się do intensywnej syntezy PG.

**Czynnik hamujący białaczkę (LIF; leukemia inhibitory factor) i interleukina-6 (IL-6)** należą do grupy cytokin o podobnym działaniu. U świni obecność LIF i jego receptorów w *endometrium* oraz najwyższą aktywność LIF w płynie światła macicy wykazano w 11. dniu po zapłodnieniu (2, 23). Cytokina ta może wpływać na rozwój zarodka, gdyż zarówno formy sferyczne, jak i nitkowate z 11. dnia ciąży wykazywały ekspresję receptorów LIF, która następnie wzrastała w dniach 12.-14. W przeciwieństwie do receptorów, nie stwierdzono obecności LIF w zarodkach (23). Z kolei obecność mRNA dla IL-6 wykazano w *endometrium* oraz zarodkach w 11. dniu ciąży, podczas procesu wydłużania trofoblastu (2, 23). Aktywne formy IL-6 obserwowano w płynie ze światła macicy w okresie przedimplantacyjnym (2). Profil ekspresji LIF i IL-6 oraz receptorów LIF w zarodkach i *endo-*

*metrium* wskazuje na istotną, aczkolwiek różną rolę obu cytokin podczas wczesnej ciąży. Współdziałanie produkowanego przez *endometrium* LIF z czynnikami pochodzenia zarodkowego wydaje się kluczowe dla właściwego rozwoju zarodka i jego implantacji. Z kolei IL-6 produkowana w *endometrium*, będąc mediatorem miejscowego stanu zapalnego, wpływa na zwiększenie przepływu krwi i przepuszczalność naczyń. Natomiast nie jest znane molekularne podłoże ekspresji IL-6 w zarodkach, sugeruje się jednak, iż ma to związek z wrodzoną regulacją ekspresji genów w okresie wydłużania zarodka (23).

### Zmiany morfologiczne w obrębie nabłonka powierzchniowego

Około 13.-14. dnia ciąży rozpoczyna się proces przylegania trofoblastu do receptywnych komórek *endometrium* (18), co umożliwia unikatowe połączenie pomiędzy dwoma różnymi genetycznie tkankami. Jednak, aby doszło do implantacji muszą nastąpić zasadnicze zmiany w morfologii i komórkowej organizacji w części apikalnej i podstawnej nabłonka powierzchniowego *endometrium*. W 10. dniu po zapłodnieniu komórki nabłonka mają kształt walcowaty z wyraźnymi mikrokosmkami na powierzchni, skondensowanym jądrem umiejscowionym w części podstawnej oraz niewielką ilością glikogenu. Powierzchnie komórek w części apikalnej są prawie płaskie bądź delikatnie zaokrąglone, pokrywa je gruba warstwa glikokaliksu (8, 18). Natomiast w 13.-14. dniu ciąży, w miejscach, gdzie doszło już do kontaktu *endometrium* z trofoblastem, komórki nabłonka powierzchniowego wykazują liczne zmiany strukturalne. Jądra są większe, a cytoplazma mniej skondensowana ze znacznie liczniejszymi złogami glikogenu w części podstawnej. Cechą charakterystyczną jest również zmiana kształtu powierzchni nabłonka na kopulastą oraz znaczna utrata mikrokosmków (18). Równocześnie z przejściem nabłonka w fazę receptywną i wzrostem produkcji progesteronu następuje modyfikacja ścisłych połączeń nabłonka *endometrium*, co powoduje zmniejszenie przepuszczalności komórek (8). Wypustki komórek trofoblastu z jednej strony i komórek nabłonkowych z drugiej zażębiają się, tworząc strukturę przypominającą wsunięte między siebie palce rąk (18). Nabłonek *endometrium* wciąż pokryty jest dość grubą warstwą glikokaliksu. Dopiero proces tworzenia łożyska wymaga redukcji warstwy cukrowej na powierzchni komórek nabłonkowych, co umożliwia wytworzenie nadzwyczaj bliskiego, lecz nie inwazyjnego, kontaktu między komórkami zarodka i *endometrium* (8).

### System kalikreina–kininogen–kinina

Nieinwazyjny typ implantacji, z jakim mamy do czynienia u świni, możliwy jest dzięki obecności na powierzchni błony śluzowej macicy szeregu inhibitorów proteinaz, które obniżają inwazyjność trofoblastu (25). Jednak w okresie wydłużania zarodka wykazano

obecność w świetle macicy niewielkiego fragmentu C-końca jednej z glikoprotein powierzchniowych – inter- $\alpha$ -inhibitora trypsyny (ITIH4; inter- $\alpha$ -trypsin inhibitor heavy chain 4), należącego do rodziny inhibitorów proteinaz, którego funkcją jest stabilizacja macierzy zewnątrzkomórkowej w miejscu kontaktu *endometrium* z trofoblastem oraz prawdopodobnie regulacja matczynej odpowiedzi immunologicznej (13). Sugeruje to kontrolowaną przez estrogeny pochodzenia zarodkowego proteolizę składników glikokaliksu we wczesnej ciąży u świni. Potwierdzeniem tej hipotezy mogą być wyniki Blaira i wsp. (5), którzy zaobserwowali stopniową redukcję glikokaliksu między 12. a 18. dniem ciąży.

Degradacja ITIH4 zachodzi przy udziale kalikreiny, której aktywność wzrasta w macicy i zarodkach po 10. dniu ciąży (28). Kalikreina tkankowa, aktywny komponent układu kalikreina-kininogen-kinina, należy do rodziny enzymów proteolitycznych (proteinaz serynowych) i katalizuje powstanie istotnego mediatora zapalnego – bradykininy. Podwyższona aktywność kalikreiny w 12. dniu po owulacji zbiega się w czasie z utratą receptorów progesteronu w nabłonku powierzchniowym *endometrium*, okresem matczynego rozpoznania ciąży i początkowymi etapami przylegania trofoblastu (4). Sugeruje się, że podwyższona aktywność kalikreiny w macicy świni we wczesnej ciąży może prowadzić do odsłonięcia miejsc przylegania trofoblastu, dzięki trawieniu glikoproteiny ITIH4 stabilizującej warstwę cukrową pokrywającą *endometrium* (28).

Natomiast bradykinina powstająca podczas trawienia kininogenu obecnego w macicy świni we wczesnej ciąży (27), jest hormonem tkankowym należącym do kinin. Jej zwiększoną zawartość w płynie światła macicy stwierdzono jedynie u zwierząt ciężarnych w 12-18 dniach po owulacji (1). Bradykinina ma szerokie spektrum działania, wpływa m.in. na rozszerzenie naczyń krwionośnych, wzmacnia przepuszczalność naczyń włosowatych i pobudza wydzielanie PG. Ponieważ wszystkie ze wspomnianych powyżej zjawisk występują podczas wydłużania i implantacji zarodka u świni, prawdopodobnie funkcja kalikreiny nie ogranicza się jedynie do ułatwiania procesu implantacji, ale wpływa też na uwalnianie kinin o plejotropowym działaniu.

### Podsumowanie

U świni synteza i uwalnianie estrogenów przez gwałtownie rozwijające się zarodki w 11. dniu po zapłodnieniu jest sygnałem warunkującym zmiany w obrębie macicy umożliwiające prawidłową implantację, tworzenie łożyska i przebieg ciąży. PGE<sub>2</sub> produkowana przez 10-11-dniowe zarodki wspomaga luteotropowe działanie estrogenów, a profile ekspresji mPGES-1, PGFS i CBR1 w zarodku pokrywają się z ich zawartością w *endometrium*. Świadczy to o wzajemnych interakcjach pomiędzy zarodkami a błoną śluzową ma-

cicy, których celem jest zmiana stosunku  $PGE_2/PGF_{2\alpha}$ . Zwiększenie przepływu krwi i przepuszczalności naczyń w macicy ułatwia dopływ substancji odżywczych do zarodka, jak również transport produktów trofoblastu do matczynej krwi, celem podtrzymania funkcji CL. Ponadto obecność cytokin (zwłaszcza IL-1 $\beta$ ) oraz aktywacja układu kalikreina-kininogen-kinina stanowi istotny element procesu implantacji i pozwala na umieszczenie tych czynników wśród markerów receptywności *endometrium*.

### Piśmiennictwo

- Allen M. R., Zhang B. R., Hettinger A. M., Goad D. W., Malayer J. R., Geisert R. D.: Detection of bradykinin and bradykinin-beta(2) receptors in the porcine endometrium during the estrous cycle and early pregnancy. *Biol. Reprod.* 2002, 66, 574-579.
- Anegon I., Cuturi M. C., Godard A., Moreau M., Terqui M., Martinat-Boite F., Soullillou J. P.: Presence of leukaemia inhibitory factor and interleukin 6 in porcine uterine secretions prior to conceptus attachment. *Cytokine* 1994, 6, 493-499.
- 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<sub>2</sub>alpha by the uterine endometrium. *Prostaglandins* 1977, 14, 397-400.
- Bazer F. W., Vallet J. L., Roberts R. M., Sharp D. C., Thatcher W. W.: Role of conceptus secretory products in establishment of pregnancy. *J. Reprod. Fertil.* 1986, 76, 841-850.
- Blair R. M., Geisert R. D., Zavy M. T., Yellin T., Fulton R. W., Short E. C.: Endometrial surface and secretory alterations associated with embryonic mortality in gilts administered estradiol valerate on days 9 and 10 of gestation. *Biol. Reprod.* 1991, 44, 1063-1079.
- Bowen J. A., Bazer F. W., Burghardt R. C.: Spatial and temporal analyses of integrin and Muc-1 expression in porcine uterine epithelium and trophoblast in vivo. *Biol. Reprod.* 1996, 55, 1098-1106.
- Christenson L. K., Farley D. B., Anderson D. H., Ford S. P.: Luteal maintenance during early pregnancy in the pig: role for prostaglandin E<sub>2</sub>. *Prostaglandins* 1994, 47, 61-75.
- Dantzer V.: Electron microscopy of the initial stages of placentation in the pig. *Anat. Embryol.* 1985, 172, 281-293.
- Davis D. L., Blair R. M.: Studies of uterine secretions and products of primary cultures of endometrial cells in pigs. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1993, 48, 143-155.
- Dvorak H. F., Brown L. F., Detmar M., Dvorak A. M.: Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am. J. Pathol.* 1995, 146, 1029-1039.
- Ferrara N., Gerber H. P., LeCouter J.: The biology of VEGF and its receptors. *Nat. Med.* 2003, 9, 669-676.
- Ford S. P., Christenson R. K.: Blood flow to uteri of sows during the estrous cycle and early pregnancy: local effect of the conceptus on the uterine blood supply. *Biol. Reprod.* 1979, 21, 617-624.
- Geisert R. D., Dixon M. J., Pratt T., Schmitt R. A., Lessley B. A., McCann J. P.: Isolation and characterization of a 30-kDa endometrial glycoprotein synthesized during the estrous cycle and early pregnancy of the pig. *Biol. Reprod.* 1995, 53, 1038-1050.
- Geisert R. D., Pratt T. N., Bazer F. W., Mayes J. S., Watson G. H.: Immunocytochemical localization and changes in endometrial progesterin receptor protein during the porcine oestrous cycle and early pregnancy. *Reprod. Fertil. Dev.* 1994, 6, 749-760.
- Geisert R. D., Schmitt R. A. M.: Early embryonic survival in the pig: Can it be improved? *J. Anim. Sci.* 2002, 80, E54-E65.
- Halder J. B., Zhao X., Soker S., Paria B. C., Klagsbrun M., Das S. K., Dey S. K.: Differential expression of VEGF isoforms and VEGF(164)-specific receptor neuropilin-1 in the mouse uterus suggests a role for VEGF(164) in vascular permeability and angiogenesis during implantation. *Genesis* 2000, 26, 213-224.
- Kaczmarek M. M., Waclawik A., Blitek A., Kowalczyk A. E., Schams D., Ziecik A. J.: Expression of the vascular endothelial growth factor-receptor system in the porcine endometrium throughout the estrous cycle and early pregnancy. *Mol. Reprod. Dev.* 2008, 74, 362-372.
- Keys J. L., King G. J.: Microscopic examination of porcine conceptus-maternal interface between days 10 and 19 of pregnancy. *Am. J. Anat.* 1990, 188, 221-238.
- Keys J. L., King G. J.: Morphological evidence for increased uterine vascular permeability at the time of embryonic attachment in the pig. *Biol. Reprod.* 1988, 39, 473-487.
- Kol S., Kehat I., Adashi E. Y.: Ovarian interleukin-1-induced gene expression: privileged genes threshold theory. *Med. Hypotheses* 2002, 58, 6-8.
- Kraeling R. R., Rampacek G. B., Fiorello N. A.: Inhibition of pregnancy with indomethacin in mature gilts and prepubertal gilts induced to ovulate. *Biol. Reprod.* 1985, 32, 105-110.
- Krzyszowski T., Stefanczyk-Krzyszowska S.: The estrous cycle and early pregnancy – a new concept of local endocrine regulation. *Vet. J.* 2004, 168, 285-296.
- Modric T., Kowalski A. A., Green M. L., Simmen R. C., Simmen F. A.: Pregnancy-dependent expression of leukaemia inhibitory factor (LIF), LIF receptor-beta and interleukin-6 (IL-6) messenger ribonucleic acids in the porcine female reproductive tract. *Placenta* 2000, 21, 345-353.
- Rockwell L. C., Pillai S., Olson C. E., Koos R. D.: Inhibition of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor action blocks estrogen-induced uterine edema and implantation in rodents. *Biol. Reprod.* 2002, 67, 1804-1810.
- Roberts R. M., Xie S., Trout W. E.: Embryo-uterine interactions in pigs during week 2 of pregnancy. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1993, 48, 171-186.
- Ross J. W., Malayer J. R., Ritchey J. W., Geisert R. D.: Characterization of the interleukin-1beta system during porcine trophoblastic elongation and early placental attachment. *Biol. Reprod.* 2003, 69, 1251-1259.
- Vonnahme K. A., Fernando S. C., Ross J. W., Ashworth M. D., DeSilva U., Malayer J. R., Geisert R. D.: Porcine endometrial expression of kininogen, factor XII, and plasma kallikrein in cyclic and pregnant gilts. *Biol. Reprod.* 2004, 70, 132-138.
- Vonnahme K. A., Malayer J. R., Spivey H. O., Ford S. P., Clutter A., Geisert R. D.: Detection of kallikrein gene expression and enzymatic activity in porcine endometrium during the estrous cycle and early pregnancy. *Biol. Reprod.* 1999, 61, 1235-1241.
- Waclawik A., Rivero-Muller A., Blitek A., Kaczmarek M. M., Brokken L., Rahman N. A., Ziecik A. J.: Molecular cloning and spatio-temporal expression of prostaglandin synthase and microsomal prostaglandin synthase-1 in porcine endometrium. *Endocrinology* 2006, 147, 210-221.
- Waclawik A., Ziecik A. J.: Differential expression of prostaglandin (PG) synthesis enzymes in conceptus during peri-implantation period and endometrial expression of carbonyl reductase/PG 9-ketoreductase in the pig. *J. Endocrinol.* 2007, 194, 499-510.
- Ziecik A. J.: Old, new and the newest concepts of inhibition of luteolysis during early pregnancy in pig. *Dom. Anim. Endocrinol.* 2002, 23, 265-275.

Adres autora: dr Agnieszka Blitek, ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn;  
e-mail: agas@pan.olsztyn.pl