

Rola markerów immunologicznych w ocenie właściwości implantacyjnych endometrium macicy – implikacje kliniczne

Barbara Macura¹, Marian Szczepanik², Piotr Sura², Leopold Śliwa¹

¹ Zakład Biologii Rozwoju Człowieka, Wydział Nauk o Zdrowiu, UJCM

² Katedra Biologii Medycznej, Wydział Nauk o Zdrowiu, UJCM

Macura B, Szczepanik M, Sura P, Śliwa L. Rola markerów immunologicznych w ocenie właściwości implantacyjnych endometrium macicy – implikacje kliniczne. Med. Og Nauk Zdr. 2017; 23(2): 143–147. doi: 10.26444/monz/75293

Streszczenie

Wprowadzenie i cel pracy. Problemy nawracających poronień u kobiet, jak również niepowodzeń w implantacji wszczepianych zarodków w metodzie zapłodnienia *in vitro* (IVF) mogą być związane z nieprawidłowym funkcjonowaniem błony śluzowej macicy. Do przyczyn tych zjawisk zalicza się m.in. nieprawidłowości immunologiczne w funkcjonowaniu endometrium.

Skrócony opis stanu wiedzy. Implantację można zdefiniować jako proces wnikania zarodka w głąb błony śluzowej macicy. Przebieg procesu implantacji jest uzależniony od wielu molekularnych interakcji pomiędzy „receptywnym” endometrium a dojrzałą blastocystą. Dojrzała blastocysta może rozpocząć implantację w endometrium macicy tylko podczas tzw. „okienka implantacyjnego”. Ograniczony czas „okienka implantacyjnego” umożliwia skoordynowaną komunikację molekularną pomiędzy zarodkiem a endometrium. Obecnie znanych jest wiele czynników pochodzenia macicznego i zarodkowego związanych z implantacją i wczesnym utrzymaniem ciąży. Niestety, chociaż teoretyczna znajomość procesów immunologicznych w endometrium macicy jest powszechnie znana, to jednak trudno jest przełożyć tę wiedzę na praktykę kliniczną.

Podsumowanie. Istnieje nadzieja, że nowe procedury diagnostyczne tych zaburzeń będą opierać się o bezpośredni pomiar stężeń określonych markerów w wydzielinie endometrium. Być może w niedługiej przyszłości wiedza o immunologicznych zaburzeniach endometrium zostanie lepiej wykorzystana, co umożliwi skuteczniejszą terapię par z problemem niepłodności.

Słowa kluczowe

czynniki immunologiczne, endometrium, implantacja, poronienia nawykowe, zapłodnienie *in vitro* (IVF)

WPROWADZENIE I CEL PRACY

Zapłodnienie komórki jajowej, a następnie implantacja embrionu w endometrium to kluczowy etap w rozwoju zarodka. Nawiązanie prawidłowego, fizjologicznego kontaktu pomiędzy komórkami zarodka a endometrium macicy jest warunkiem koniecznym dla dalszego rozwoju ciąży. Z kolei prawidłowe oddziaływanie embrionu na endometrium i endometrium na embrion jest możliwe tylko przy pełnym i prawidłowym ukształtowaniu morfologicznym i czynnościowym obu struktur. Tylko w okresie tak zwanego „okienka implantacyjnego” może dojść do zagnieżdżenia embrionu w błonie śluzowej macicy. Czas ten przypada około 6–7 dni po zapłodnieniu. Okres ten charakteryzuje się między innymi wzrostem przepuszczalności naczyń krwionośnych endometrium, napływem komórek układu odpornościowego oraz wzrostem poziomu cytokin. Tak przekształcone endometrium nazywa się doczesną. Doczesna jest mocno przekrwiona i obrzęknięta, a jej grubość może osiągnąć nawet 10 mm, co przypomina fizjologiczny stan zapalny [1–3].

Niepowodzenia prokreacyjne w trakcie leczenia niepłodności mogą być spowodowane nieprawidłowym funkcjonowaniem endometrium. Najnowsze badania nad tym zagadnieniem zmierzają w kierunku poznania lokalnych zmian we właściwościach endometrium macicy oraz roli

czynników molekularnych i genetycznych w jego obrębie, ze szczególnym uwzględnieniem procesów immunologicznych. Jest to związane z faktem, iż ciąża z immunologicznego punktu widzenia jest naturalnym przeszczepem, odpornym na odrzucenie [1].

OPIS STANU WIEDZY

Istnieją doniesienia wskazujące, że nawracające poronienia mogą być związane z nieprawidłowo przebiegającą reakcją doczesnową. Czas „okienka implantacyjnego” to także czas maksymalnej „receptywności endometrium”. W tym czasie możliwy jest „wysublimowany dialog receptorowy” pomiędzy embrionem a endometrium. Ograniczony czas „okienka implantacyjnego” endometrium w warunkach fizjologicznych jest czasem optymalnym dla rozpoznania przylegającego embrionu, morfologicznej i biochemicznej odpowiedzi na jego obecność oraz ewentualnej eliminacji nieprawidłowego zarodka. Tak więc wytworzenie selektywnego, a jednocześnie ścisłego połączenia między zarodkiem a matką, rozpoczyna się już w momencie implantacji blastocysty. Nieprawidłowa reakcja doczesnowa stwarza możliwość późnej implantacji, zagnieżdżenia nieprawidłowych zarodków oraz późniejszych problemów w wytworzeniu zaczątków łożyska i jego dalszym funkcjonowaniem. „Dialog receptorowy” pomiędzy endometrium a zarodkiem jest możliwy dzięki obecności wielu fizjologicznych czynników, również tych o charakterze immunologicznym, takich jak przykładowo liczne cytokiny [3–7].

Adres do korespondencji: Barbara Macura, Zakład Biologii Rozwoju Człowieka, Wydział Nauk o Zdrowiu, UJCM, ul. Kopernika 7, 31-034 Kraków, Polska
E-mail: barbara.macura@uj.edu.pl

Nadesłano: 14 kwietnia 2017; zaakceptowano do druku: 22 czerwca 2017

U kobiet charakteryzujących się prawidłową płodnością szacuje się, iż około 30% zarodków ulega utracie jeszcze przed implantacją, a kolejne 30% po implantacji, ale jeszcze przed mającą wystąpić menstruacją. Około 10% poronień przypada na poronienia zaobserwowane klinicznie, a pozostałe 30% to zapłodnienia, które zakończyły się urodzeniem żywego dziecka. W przypadku kobiet, u których stwierdzono zaburzenia w prawidłowym funkcjonowaniu endometrium, około 30% zarodków jest traconych przed rozpoznaniem klinicznym ciąży, kolejnych 40% po rozpoznaniu klinicznym ciąży, a 30% zarodków rozwija się do czasu narodzin. Oznacza to, iż kobiety z nieprawidłową funkcją endometrium mogą pozornie wydawać się bardzo płodne, jednak w rzeczywistości dochodzi u nich do opóźnionej, w stosunku do zdrowych kobiet, eliminacji nieprawidłowych zarodków, kiedy to ciąża jest już klinicznie stwierdzona. Czas osiągnięcia kolejnej ciąży jest przez te kobiety wprawdzie krótki, ale liczba późniejszych poronień wysoka [4,8].

U człowieka ilość poronień jest stosunkowo duża w porównaniu z wieloma innymi gatunkami zwierząt co, przynajmniej częściowo, może wynikać z faktu, że częstość występowania nieprawidłowych embrionów, na przykład obciążonych aberracjami chromosomowymi, jest bardzo wysoka. Reakcja doczesnowa zapewnia wrażliwość endometrium na rozpoznawanie prawidłowych i nieprawidłowych zarodków i szybką eliminację zarodków nieprawidłowych, jeszcze w czasie okołoinplantacyjnym [4,9].

Do czynników wydzielanych przez endometrium macicy w czasie implantacji i wczesnej ciąży zalicza się m.in. różnego rodzaju cytokiny i czynniki wzrostu, np. interleukinę-1 i 2 (IL-1 i IL-2), czynnik hamujący białaczkę (LIF, ang. leukemia inhibitory factor), insulinopodobny czynnik wzrostu I i II (IGF I i IGF II, ang. insulin-like growth factor I i II), czynnik wzrostu kolonii 1 (CSF-1, ang. colony stimulating factor 1), transformujące czynniki wzrostu (TGF- α i TGF- β , ang. transforming growth factor α i β), czynnik wzrostu hepatocytów (HGF, ang. hepatocyte growth factor), czynnik wzrostu fibroblastów (FGF, ang. fibroblast growth factor), epidermalny czynnik wzrostu wiążący heparynę podobny do EGF (HB-EGF, ang. heparin-binding epidermal growth factor), czynnik indukowany hipoksją-1 (HIF-1, ang. hypoxia inducible factor) oraz naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF, ang. vascular endothelial growth factor). Czynniki te ułatwiają komunikację pomiędzy blastocystą a macicą, promują proliferację i różnicowanie endometrium oraz regulują angiogenezę i przepuszczalność naczyń krwionośnych [5–7].

Warto podkreślić, że poza wymienionymi czynnikami również prawidłowa biosynteza prostaglandyn (PGs) jest niezbędna w czasie implantacji. Główny enzym odpowiedzialny za ich produkcję to cyklooksigenaza typu 2 (COX-2). Produkcja tego enzymu jest ograniczona zwłaszcza do miejsca implantacji i zależy od obecności prawidłowo wykształconej blastocysty. Co ciekawe, w czasie wczesnej ciąży poziom prostaglandyn w endometrium jest niższy, niż w jakiegokolwiek fazie cyklu miesięcznego. Wzrost poziomu prostaglandyn może doprowadzić do utraty ciąży. Stężenie PGs ma być regulowane przez progesteron [5,6].

Hormony steroidowe, takie jak 17 β estradiol, progesteron oraz katecholeostrogeny ułatwiają proliferację i różnicowanie endometrium oraz aktywują implantację blastocysty. Wykazano, że estrogeny nasilają syntezę receptorów progesteronowych oraz takich cząsteczek jak VEGF, IGF I,

HB-EGF oraz L-selektyn. Progesteron z kolei pobudza syntezę CSF, IL-1, PG, VEGF, glikodeliny A, IGF II, HB-EGF, fibronektyny, mucyny 1 czy L-selektyny, a hamuje produkcję LIF oraz β 3-integryny. Progesteron powoduje również obniżenie liczby receptorów estrogenowych i przekształcanie estrogenów w mniej aktywne pochodne. Z kolei czynniki immunologiczne, takie jak IL-10 oraz odpowiednia regulacja aktywności dopełniacza wywołują immunosupresję w macicy matki i rozwój matczynej tolerancji na alloantygeny płodu, a dioksygenaza 2,3 indolowa (IDO) pośrednio reguluje aktywność makrofagów [5–7].

Pinopodia to małe wyniosłości na szczycie powierzchni komórek endometrialnych, które pełnią rolę wspomagającą przy rozpoznaniu oraz przyleganiu blastocysty do endometrium. Największa wrażliwość endometrium na implantację jest obserwowana w okresie, gdy pinopodia są w pełni wykształcone, a czas ten trwa około 1 dobę. Co ważne, czas występowania wykształconych pinopodiów u kobiet jest różny [3,7]. Również mucyna 1 (Muc-1), glikodelina A (GdA) oraz integryna α β 3 produkowane przez endometrium odgrywają istotną rolę w rozpoznaniu i przyleganiu blastocysty do endometrium. Istnieją również doniesienia o immunosupresyjnej roli glikodeliny [5–7].

Z kolei czynniki produkowane przez blastocystę w czasie implantacji to różne cytokiny i czynniki wzrostu: IL-1 i IL-6, LIF, TGF- α i TGF- β , płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF, ang. platelet-derived growth factor), IGF II, VEGF oraz CSF-1. Czynniki regulujące aktywność inwazyjną trofoblastu to niektóre metaloproteinazy, katepsyny B i L oraz czynniki regulujące aktywność plazminogenu. Czynnikiem hamującym aktywność inwazyjną metaloproteinaz są ich inhibitory, syntetyzowane przez endometrium. W ten sposób dochodzi do regulacji stopnia inwazyjności trofoblastu, a tym samym głębokości implantacji w endometrium macicy. Blastocysta wydziela również hormon: ludzką gonadotropinę kosmówkową, która podtrzymuje wydzielanie progesteronu przez ciało żółte w jajniku. Z immunologicznych czynników na szczególną uwagę zasługuje HLA-G, antygen zgodności tkankowej, którego ekspresja na powierzchni zarodka zmniejsza ryzyko reakcji odrzucenia zarodka przez układ immunologiczny matki. Równocześnie komórki NK CD56⁺ matki wykazują niską aktywność cytotoksyczną. Specyficzny wzór ekspresji cząsteczek adhezyjnych, tzn. spadek poziomu integrzyn α β ₄ oraz kadheryny E, a wzrost poziomu integrzyn α β ₁ i α β ₃, a także kadheryny VE, promuje właściwości inwazyjne trofoblastu oraz jego różnicowanie. Ponadto prostaglandyna E₂ ułatwia apoptozę komórek endometrium, a czynnik aktywujący płytki (PAF, ang. platelet-activating factor) stymuluje maciczną syntezę prostaglandyn [5–7]. Na powierzchni blastocysty znajdują się również mikrokosmki, ułatwiające adhezję do powierzchni endometrium i interakcję z pinopodiami oraz receptory i inne cząsteczki ułatwiające interakcję m.in. z EGF oraz LIF [5,6].

W okresie okienka implantacyjnego potwierdzono w endometrium wzrost poziomu podjednostki β inhibiny A, LIF, IL-1 β , VEGF-A oraz glikodeliny A, a spadek poziomu CSF-1, natomiast w osoczu wzrost poziomu inhibiny A i glikodeliny A [7].

W czasie implantacji blastocysty zmieniają się nie tylko wydzielane przez nią substancje oraz ekspresja receptorów powierzchniowych, ale podobny proces zachodzi również w endometrium macicy. Przykładowo receptory niezbędne dla adhezji blastocysty stopniowo ulegają zastąpieniu

receptorami odpowiedzialnymi za interakcję z naczyniami krwionośnymi endometrium [5,6]. Obecnie poszukuje się takich czynników molekularnych, które najlepiej spełniłyby rolę markera implantacji. Do takich kandydatów zalicza się m.in. LIF, CSF, IL-1, PGs, GdA, VEGF, HB-EGF, IGF, białko wiążące IGF, fibronektynę, inhibinę A, Muc-1, L-selektynę, integrynę $\alpha_v \beta_3$, anandamid czy wypustki komórek endometrium macicy [7].

Zmiany biochemiczne i molekularne, zachodzące w doczesnej podczas implantacji zarodka decydują, czy cykl płciowy zostanie zatrzymany i dojdzie do rozwoju ciąży, czy też warstwa czynnościowa endometrium zostanie złuszczone w trakcie menstruacji. Poznanie mechanizmów tych procesów być może pozwoliłoby na ocenę właściwości implantacyjnych endometrium u kobiet z trudnościami z zajściem w ciążę oraz uzyskanie większej efektywności zabiegów IVF [3,7]. Obecnie, chociaż teoretyczna znajomość procesów immunologicznych w doczesnej jest powszechnie znana, to jednak trudno jest przełożyć tę wiedzę na praktykę kliniczną. U kobiet z poronieniami nawykowymi o charakterze immunologicznym, z zaburzeniami immunoregulacji na poziomie doczesnej, stwierdza się obecność aktywowanych cytotoksycznych komórek NK i $T\gamma\delta$ oraz nieprawidłową ekspresję CD200. U innych pacjentek z zaburzeniami równowagi odpowiedzi immunologicznej z przewagą odpowiedzi typu Th1 nad Th2 (zaburzenie immunoregulacyjnej roli cytokin) stwierdza się zwiększone stężenia cytokin typu Th1 w limfocytach krwi obwodowej i doczesnej. Generalnie ciąża o prawidłowym przebiegu jest związana z występowaniem profilu cytokin typu Th2. Inne przyczyny poronień nawykowych o podłożu immunologicznym to niedobór progesteronu o charakterze immunosupresyjnym, brak lub niedobór przeciwciał blokujących, które hamują reakcję układu immunologicznego matki przeciwko obcym antygenom płodu lub obecność przeciwciał przeciwpłomnikowych, które mogą również zaburzać proces implantacji. Strategia diagnostyczna w tych przypadkach opiera się głównie na badaniach immunologicznych z krwi obwodowej, a leczenie polega na zastosowaniu immunoterapii czynnej lub biernej [10].

Kolejny krok w kierunku wykorzystania wiedzy z zakresu immunologii implantacji to niewątpliwie znalezienie biomarkerów zarówno receptywności doczesnej, jak i potencjału rozwojowego oocyty (na przykład poprzez pomiar zawartości pewnych substancji w płynie pęcherzykowym), co mogłoby przyczynić się do wzrostu efektywności zabiegów IVF [11]. Lédée i wsp. określili profil immunologiczny we fragmentach biopsyjnych endometrium, mierząc stosunki IL-18/TWEAK mRNA (ang. TNF-like weak inducer of apoptosis; ang. TNF tumor necrosis factor) oraz IL-15/Fn-14 mRNA (receptor dla TWEAK). Stosunek IL-18/TWEAK mRNA to biomarker angiogenezy oraz równowagi Th1/Th2, a stosunek IL-15/Fn-14 mRNA to biomarker aktywacji/dojrzałości uNK komórek (maciczne komórki NK). U 81,7% pacjentek z powtarzającymi się problemami z zajściem w ciążę stwierdzono zaburzenia w profilu immunologicznym endometrium, przy czym nadaktywację stwierdzono u 56,6% pacjentek, a zbyt niską aktywację układu immunologicznego u 25% pacjentek. Autorzy ci podali również rekomendacje terapeutyczne w zależności od stwierdzonej dysfunkcji układu immunologicznego. Z kolei zawartość G-CSF w płynie pęcherzykowym mogłaby spełnić rolę markera jakości oocyty [12,13].

Złożoność biochemiczna i molekularna procesu implantacji utrudnia ustalenie przyczyn poronień nawykowych

i niepowodzeń w procedurze zapłodnień *in vitro*, a w konsekwencji wybór odpowiedniej strategii leczenia. Według niektórych doniesień poronienia nawykowe są skorelowane z obniżoną ekspresją markera doczesnej, prolaktyny (PRL), a wzrostem poziomu w preparatach biopsyjnych endometrium jednej z cytokin, prokinetyki-1 (PROK1). Cytokina ta promuje proces implantacji. Co ciekawe, gonadotropina kosmówkowa (hCG), produkowana przez zarodek, wpływa na poziom PROK1 [14,15].

Wyniki badań nad wpływem poziomu czynnika LIF i receptora dla czynnika LIF na receptywność endometrium nie są jednoznaczne [15,16]. Próbuje się również znaleźć inne czynniki, które mogłyby posłużyć za markery stanu czynnościowego doczesnej, na przykład białka morfogenetyczne kości (BMPs, ang. bone morphogenetic proteins), HIF1 α czy receptor relaksyny. Wszystkie te doniesienia pochodzą z 2016 roku, co świadczy o tym, jak intensywnie ten problem jest obecnie badany, zarówno na ludziach, jak i na zwierzętach [17–19].

Inny problem stanowi fakt intensywnej stymulacji jajników w procedurze zapłodnienia *in vitro* w celu uzyskania jak największej liczby oocytów. Część z nich, po zapłodnieniu, zostaje wprowadzonych do jamy macicy celem ich implantacji. Ta hiperstymulacja hormonalna jajników może jednak doprowadzić do zaburzeń w prawidłowym wykształceniu właściwości receptywnych doczesnej, co stanowi obecnie duży problem kliniczny [20–23].

Postuluje się również istnienie polimorfizmów wielu genów, takich jak *STAT3*, *ACE*, *PAI-1*, *NOS3* [24], czy *MBL*, *HLA*, *KIR2DS1*, *IFN- γ* , *IL-6*, *ACL*, *TNF- α* [25], które być może szczególnie predysponują do niepowodzeń implantacyjnych. Te doniesienia wymagają jednak jeszcze potwierdzenia w dalszych badaniach eksperymentalnych. Badania ekspresji genów poprzez badanie poziomu mRNA różnych czynników endometrium może również okazać się pomocne w przyszłości przy określeniu optymalnego czasu na transfer zarodków w procedurze IVF. Takie postępowanie pozwoli na określenie optymalnego czasu na przeprowadzenie tej procedury, a tym samym bardziej spersonalizowanego podejścia terapeutycznego do każdej pacjentki [26].

Najnowsze trendy diagnostyczne poronień opierają się na badaniach wydzieliny endometrium, co wydaje się być obecnie najlepszą metodą określania jej aktywności wydzielniczej. Skład śluzu szyjkowego zbyt różni się od składu wydzieliny endometrium, poziom mediatorów we krwi obwodowej nie oddaje składu mediatorów w obrębie macicy, a przepłukanie jamy macicy odpowiednim płynem zbytnio rozcieńcza badane substancje i utrudnia pomiar ich stężenia. Badania takie mogłyby być niezwykle użyteczne przy określaniu optymalnego czasu transferu zarodka do macicy w procedurze IVF, jeszcze w tym samym cyklu, w którym przeprowadzono badanie wydzieliny. Dalsze badania powinny skupić się na wyjaśnieniu zmian poziomu poszczególnych markerów podczas cyklu miesięcznego kobiety, dopuszczalnej zmienności w poziomach markerów pomiędzy cyklami i opracowania zakresu wartości prawidłowych poszczególnych markerów w poszczególnych fazach cyklu [27,28].

Boomsma i wsp. [27] dokonali analizy składu cytokin w wydzielinie macicy oraz śluzu szyjkowego kobiet w okresie receptywności doczesnej. Wśród wykrytych substancji znalazło się wiele czynników o różnych funkcjach i właściwościach, np. IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, IL-17, IL-18, TNF- α , MIF (ang. macrophage migration inhibitory

factor, czynnik hamujący migrację makrofagów), eotaksyna, chemokiny: CCL, MCP-1, IP-10 oraz HB-EGF i VEGF. Wykazano, że IL-1 β indukuje ekspresję integryn na powierzchni nabłonka endometrium oraz stymuluje aktywność metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (MMPs, ang. matrix metalloproteinases). IL-5 odpowiada za różnicowanie, rekrutację i aktywację eozynofili, które odgrywają ważną rolę przy reorganizowaniu tkanki endometrialnej. IL-6 przyczynia się do wzrostu trofoblastu oraz rozwoju łożyska, a także aktywacji MMP. Cytokina ta posiada także właściwości immunomodulujące. Z kolei IL-10 hamuje proliferację i sekrecję limfocytów Th1. IL-12, IL-15 oraz IL-18 promują przebudowę naczyń krwionośnych oraz aktywują komórki uNK. IL-18 dodatkowo pobudza produkcję MMP, a w dużych dawkach działa poronnie. IL-17 odpowiada za angiogenezę oraz immunoregulację. TNF- α odpowiada za transformację komórek uNK w komórki LAK (ang. lymphokine-activated killer cells), hamuje podziały komórek zarodka oraz adhezję embrionu do doczesnej. MIF wykazuje właściwości immunomodulujące, angiogenne, wpływa na proliferację komórek oraz ich różnicowanie oraz pobudza MMP. Eotaksyna/CCL11 są chemoatraktantami dla eozynofili, które odgrywają ważną rolę w przebudowie tkanki endometrialnej, z kolei MCP-1/CCL1 są atraktantami i aktywatorami dla komórek układu odpornościowego. IP-10/CCL10 stymulują ekspresję integryn przez trofoblast oraz są również atraktantami i aktywatorami dla komórek układu odpornościowego. Hb-EGF mediuje przyłgnięcie zarodka do endometrium. VEGF wpływa na waskularyzację, angiogenezę oraz przepuszczalność naczyń krwionośnych. Jest także mitogenem komórek endotelialnych. Przykładowo obniżone poziomy IL-6, IL-10 oraz podwyższone stężenia IL-1 β , IL-12 oraz IL-17 zaobserwowano u kobiet z zająciem w ciąży i jej utrzymaniem.

Rahiminejad i wsp. badając wydzielinę endometrium, pobraną przed transferem zarodka w metodzie zapłodnienia *in vitro* zaobserwowali, że u kobiet, u których doszło do implantacji poziomy cytokin TNF- α , IP-10 oraz MCP były znacząco niższe, niż u kobiet, u których procedura ta nie powiodła się [29].

Chociaż w pracy tej skupiono się na immunologicznym aspekcie przygotowania doczesnej na przyjęcie embrionu należy jeszcze raz podkreślić, iż zarówno zarodek, jak i endometrium macicy są równorzędnymi partnerami w osiągnięciu sukcesu reprodukcyjnego. Niezwykle istotny jest stopień dojrzałości embrionu i jego jakość biologiczna w momencie zetknięcia zarodka z endometrium. Czynniki decydującymi o jakości embrionu są głównie integralność jego materiału genetycznego, pochodzącego od obojga rodziców, oraz zawartość cytoplazmy, pochodzącej z komórki jajowej. W przypadku uszkodzenia materiału genetycznego zygota może podjąć próbę jego naprawy, ale może to przedłużyć czas wykształcenia blastocysty poza okres trwania „okienka implantacyjnego”, a tym samym doprowadzić do wczesnej utraty embrionu. Przykładowo, na jakość materiału genetycznego plemników wpływa wiele czynników środowiskowych, na przykład postępujące zanieczyszczenie środowiska i używki, ale i czas wpływający od ejakulacji do zapłodnienia, co ma szczególne znaczenie w metodach wspomaganego rozrodu. Podczas przeprowadzania procedury ICSI (z ang. intracytoplasmic sperm injection- mikroiniekcja plemnika do komórki jajowej) zaobserwowano, że nasilenie fragmentacji DNA plemnika koreluje z wolniejszym rozwojem zarodka

i późniejszym osiągnięciem przez niego stanu dojrzałości umożliwiającego implantację. Stwierdzono, że nasilenie fragmentacji DNA po 12 godzinach inkubacji jest czynnikiem prognostycznym dla uzyskania ciąży. Niezwykle istotne jest wszczepianie zarodka do endometrium macicy po sprawdzeniu stopnia jego rozwoju, a w uzasadnionych przypadkach zamrożenie blastocysty i podjęcie próby uzyskania ciąży w kolejnym cyklu płciowym kobiety [30, 31].

PODSUMOWANIE

Wyniki najnowszych badań nad receptywnością doczesnej dostarczają wielu pytań. Jak zmieniona receptywność doczesnej wpływa na proces implantacji? Czy na poziomie molekularnym i biochemicznym można ocenić, które czynniki odpowiadają za to zjawisko i jak takiej oceny dokonać? Jak można wykorzystać tę wiedzę w praktyce klinicznej do określenia optymalnego czasu przeprowadzenia zabiegu IVF? Czy ta sama metoda mogłaby pomóc parom z trudnościami w poczęciu dziecka w określeniu dni płodnych? Ponad 50% przypadków poronień nawykowych, pomimo przeprowadzonych badań diagnostycznych, pozostaje ciągle niewyjaśnionych [32]. Z drugiej strony czynnikiem najbardziej ograniczającym efektywność zabiegów IVF są niepowodzenia w implantacji wszczepianych zarodków. Do przyczyn tych zjawisk zalicza się m.in. nieprawidłowości immunologiczne we funkcjonowaniu doczesnej. Niewykluczone, że nowe procedury diagnostyczne tych zaburzeń będą się opierać o bezpośredni pomiar stężeń krytycznych czynników w wydzielinie endometrium. Taka strategia diagnostyczna pozwoli na uzyskanie wyniku bardziej odpowiadającego warunkom panującym w endometrium, niż pomiary z krwi obwodowej, a jednocześnie będą mniej inwazyjne, niż biopsja endometrium. Być może pozwoli to w niedługiej przyszłości lepiej poznać mechanizmy tych zaburzeń i przez to możliwa będzie skuteczniejsza terapia par z problemem niepłodności.

PIŚMIENNICTWO

- Mazur EC, Large MJ, DeMayo FJ. Human oviduct and endometrium: changes over the menstrual cycle. W: Plant TM, Zeleznik AJ. Knobil and Neill's physiology of reproduction. Elsevier, USA and UK, 2015, 1077–1097.
- Skałba P. Endokrynologia ginekologiczna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2008.
- Halberszadt A, Pająk J, Nowicki P, Jałocha I, Gabryś MS. Implantacja a antygenowość ludzkiego endometrium. Postępy Hig Med Dośw. 2006; 60: 71–77.
- Teklenburg G, Salker M, Heijnen C, Macklon NS, Brosens JJ. The molecular basis of recurrent pregnancy loss: impaired natural embryo selection. Mol Hum Reprod. 2010; 16: 886–895.
- Norwitz ER. Defective implantation and placentation: laying the blueprint for pregnancy complications. RBMOnline. 2006; 13: 591–599.
- Norwitz ER, Schust DJ, Fisher SJ. Implantation and the survival of early pregnancy. N Engl J Med. 2001; 345: 1400–1408.
- Hoozemans D. Human embryo implantation: current knowledge and clinical implications in assisted reproductive technology. RBM Online. 2004; 9: 692–715.
- Larsen EC, Christiansen OB, Kolte AM, Macklon N. New insights into mechanisms behind miscarriage. BMC Medicine. 2013; 11: 154. doi: 10.1186/1741-7015-11-154.
- Teklenburg G, Salker M, Molokhia M, Lavery S, Trew G, Aojanepong T et al. Natural selection of human embryos: decidualizing endometrial stromal cells serve as sensors of embryo quality upon implantation. PLoS ONE. 2010; 5: e10258. doi: 10.1371/journal.pone.0010258.

10. Malinowski A, Radwan M. Diagnostyka immunologiczna w porównaniach nawykowych: algorytm postępowania diagnostyczno- leczniczego z wykorzystaniem wyników badań własnych. *Perinatol Neonatol Ginekolog.* 2011; 4: 27–36.
11. Hammadeh ME, Fischer-Hammadeh C, Amer AS, Rosenbaum P, Schmidt W. Relationship between cytokine concentration in serum and preovulatory follicular fluid and in vitro fertilization/ intracytoplasmic sperm injection outcome. *Chem Immunol Allergy.* 2005; 88: 80–97.
12. Lédée N, Petitbarat M, Chevrria L, Vitoux D, Vezmar K, Rahmati M et al. The uterine immune profile may help woman with repeated unexplained embryo implantation failure after in vitro fertilization. *AJRI.* 2016; 75: 338–401.
13. Lédée N, Petitbarat M, Rahmati M, Dubanchet S, Chaouat G, Sandra O et al. New pre-conception immune biomarkers for clinical practice: interleukin- 18, interleukin- 15 and TWEAK on the endometrial side, G-CSF on the follicular side. *J Reprod Immunol.* 2011; 88: 118–123.
14. Salkler N, Teklenburg G, Molokhia M, Lavery S, Trew G, Aojanepong T et al. Natural selection of human embryos: impaired decidualization of endometrium disables embryo-maternal interactions and causes recurrent pregnancy loss. *PLoS ONE.* 2010; 5: e10287. doi: 10.1371/journal.pone.0010287.
15. Karaer A, Cigremis Y, Celik E, Urhan Gonullu R. Prokineticin 1 and leukemia inhibitory factor mRNA expression in the endometrium of women with idiopathic recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* 2014; 102: 1091–1095.
16. Margioulas-Siarkou C, Prapas Y, Petousis S, Milias S, Ravanos K, Kaloianidis I et al. LIF and LIF-R expression in the endometrium of fertile and infertile women: a prospective observational case- control study. *Mol Med Rep.* 2016; 13: 4721–4728.
17. Monsivais D, Clementi C, Peng J, Titus MM, Barrish JP, Creighton CJ et al. Uterine ALK3 is essential during the window of implantation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2016; 113: E387–E385.
18. Chen X, Jiang L, Wang CC, Huang J, Li TC. Hypoxia inducible factor and microvessels in peri-implantation endometrium of women with recurrent miscarriage. *Fertil Steril.* 2016; 105: 1496–1502.
19. Campitiello MR, Caprio F, Mele D, Deufemia D, Colacurci N, De Franciscis P. Endometrial LGR7 expression and implantation failure. *Gynecol Endocrinol.* 2016; 13: 1–4.
20. Ming-Qing L, Li-Ping J. Ovarian stimulation for in vitro fertilization alters the protein profile expression in endometrial secretion. *Int J Clin Pathol.* 2013; 6: 1964–1971.
21. Von Grothausen C, Lalitkumar S, Boggavarapu NR, Gemzell-Danielson K, Lalitkumar PG. Recent advances in understanding endometrial receptivity: molecular basis and clinical applications. *AJRI.* 2014; 72: 148–157.
22. Valdez-Morales FJ, Gamboa-Domínguez A, Vital-Reyes VS, Hinojosa Cruz JC, Chimal-Monroy J, Franco-Murillo Y et al. Changes in receptivity epithelial cell markers of endometrium after ovarian stimulation treatments: its role during implantation window. *Reprod Health.* 2015; 12: 45. doi: 10.1186/s12978-015-0034-7.
23. Boomsma CM, Kavelaars A, Eijkemans MJ, Fauser BC, Heijnen CJ, Macklon NS. Ovarian stimulation for in vitro fertilization alters the intrauterine cytokine, chemokine and growth factor milieu encountered by the embryo. *Fertil Steril.* 2010; 94: 1764–1768.
24. Michalak M, Darmochwał-Kolarz D, Leszczyńska-Gorzela B, Oleszczuk J. Przyczyny, diagnostyka i leczenie poronień nawykowych- część II. *GinPolMedProject.* 2011; 3: 9–26.
25. Christiansen OB, Steffensen R, Nielsen HS, Varming K. Multifactorial etiology of recurrent miscarriage and its scientific and clinical implications. *Gynecol Obstet Invest.* 2008; 66: 257–267.
26. Miravet- Valenciano JA, Rincon- Bertolin A, Vilella F, Simon C. Understanding and improving endometrial receptivity. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2015; 27: 187–192.
27. Boomsma C. Cytokine profiling in endometrial secretions: a non- invasive window on endometrial receptivity. *RBMOnline.* 2009; 18: 85–94.
28. Teklenburg G, Macklon NS. In vitro models for the study of early human embryo- endometrium interactions. *Reprod Sci.* 2009; 16: 811–818.
29. Rahiminejad ME, Moaddab A, Ebrahimi M, Rabiee S, Zamani A, Ezzati M et al. The relationship between some endometrial secretion cytokines and in vitro fertilization. *Iran J Reprod Med.* 2015; 13: 557–562.
30. Wdowiak A., Bakalczuk S., Bakalczuk G. The effect of sperm DNA fragmentation on the dynamics of the embryonic development in intracytoplasmic sperm injection. *Reprod. Biol.* 2015; 15, 94–100.
31. Wdowiak A., Bojar I. Relationship between pregnancy, embryo development, and sperm deoxyribonucleic acid fragmentation dynamics. *Saudi J. Biol. Sci.* 2016; 23: 598–606.
32. Michalak M, Darmochwał-Kolarz D, Leszczyńska-Gorzela B, Oleszczuk J. Przyczyny, diagnostyka i leczenie poronień nawykowych- część I. *GinPolMedProject.* 2011; 1: 15–30.

The role of immunological markers in assessment of implantation uterus receptivity – clinical implications

Abstract

Introduction and aim of the paper. The defective endometrial function may cause the recurrent pregnancy loss and the embryo implantation failure after *in vitro* fertilization (IVF). The abnormal endometrial receptivity is associated, in some cases, with the improper composition of immunological factors in the uterus.

Brief description of the state of knowledge. Implantation is characterized by invasion of the maternal tissues of the uterus by the embryo. Successful implantation is the end result of complex molecular interactions between the receptive uterus and mature blastocyst. During implantation, mature blastocyst may attach to the endometrium only during “implantation window”. A limited “window of implantation” ensures coordinated embryonic and endometrial development. Nowadays, a lot of uterine and blastocyst biological factors are known associated with implantation and early pregnancy maintenance. Although the theoretical knowledge of immunological factors in the endometrium is significant, the clinical implications of these elements are poorly understood.

Summary. Currently, a new diagnostic strategy, namely the cytokine profiling in the endometrial secretions, is proposed to demonstrate their role in human reproduction. Practical utilization of the knowledge about endometrial factors during the human embryo implantation may sufficiently facilitate infertility treatment in the future.

Key words

immunological factors, endometrium, implantation, recurrent pregnancy loss, *in vitro* fertilization (IVF)