

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: BBI



**Anna Škvorová**

Vliv progesteronu na maternální imunitní systém v těhotenství

Progesterone influence on the maternal immune system in pregnancy

Bakalářská práce

Vedoucí práce: MUDr. Michal Koucký, Ph.D.

**Poděkování:**

Děkuji svému školiteli MUDr. Michalu Kouckému, Ph.D. za odborné vedení a trpělivost, konzultantce RNDr. Magdaleně Krulové, Ph.D. za cenné rady a pomoc, kamarádce Mgr. Jarmile Hnilicové, Ph.D. za podnětné připomínky a zároveň děkuji svým rodičům a partnerovi za poskytnuté zázemí a podporu při psaní práce.

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 13. 05. 2016

Anna Škvorová

## **Abstrakt**

Těhotenství představuje velkou výzvu pro maternální imunitní systém. Z imunologického pohledu je plod semi-alogenním štěpem. Mechanismy umožňující imunologický paradox tolerance plodu stále nejsou dostatečně známy a vyžadují další výzkum. Komplikovaná síť imuno-endokrinních interakcí zajišťuje růst a vývoj plodu uvnitř matčiny dělohy. Nezastupitelnou úlohu v těhotenství hraje progesteron.

Cílem této práce je shrnout dosavadní poznatky o působení progesteronu na imunitní systém v těhotenství a jeho mechanismech. Progesteron může působit na cílové buňky pomocí klasických jaderných progesteronových receptorů, které fungují jako transkripční faktory, nebo různými jinými způsoby, včetně negenomové rychlé signalizace.

Progesteron vytváří podmínky pro úspěšné početí a těhotenství, mění množství, lokalizaci a vlastnosti imunitních buněk a produkci cytokinů. Například redukuje antigen-prezentující kapacitu dendritických buněk, monocytů a makrofágů, potlačuje cytotoxicitu NK buněk, podporuje proliferaci děložních NK a dendritických buněk, ovlivňuje B lymfocyty a indukuje vznik T regulačních lymfocytů a jejich přísun na fetomaternální rozhraní.

Široká škála imunomodulačních vlastností progesteronu zasluhuje další výzkum. Jejich lepší pochopení může vydláždít cestu k rozvoji vhodné diagnostiky a léčby neplodnosti, potratu, předčasného porodu, ale i některých autoimunitních onemocnění a rakovin.

### **Klíčová slova**

progesteron, těhotenství, semi-alogenní plod, potrat, imuno-endokrinní interakce, progesteronové receptory, T regulační lymfocyty, makrofágy, NK buňky, dendritické buňky

## **Abstract**

Pregnancy represents a major challenge to the maternal immune system. From an immunological point of view, a fetus is a semi-allograft. The mechanisms providing immunological paradox of fetal tolerance are still not well known and require further research. A complex network of immuno-endocrine interactions ensures fetal growth and development within the maternal uterus. The hormone playing an indispensable role in pregnancy is progesterone.

The aim of this thesis is to summarize current knowledge of the effects of progesterone on the immune system in pregnancy and its mechanisms. Progesterone can affect target cells via the classical nuclear progesterone receptors, which act as transcription factors, or it can act using a variety of other ways, including non-genomic rapid signaling.

Progesterone optimizes conditions for successful establishment and maintenance of pregnancy, changes the amount, localization and characteristics of immune cells and production of cytokines. It reduces the antigen-presenting capacity of dendritic cells, monocytes, and macrophages, suppresses NK cell cytotoxicity, supports the proliferation of uterine NK and dendritic cells, affects B cells and induces the formation of T regulatory cells and their recruitment into the fetal-maternal interface.

The wide range of immunomodulatory properties of progesterone deserves further investigation. A better understanding of these properties may pave the path to development of appropriate diagnostics and treatment of infertility, miscarriage, preterm delivery, but also some autoimmune diseases and cancers.

## **Keywords**

progesterone, pregnancy, semi-allogeneic fetus, miscarriage, immuno-endocrine interactions, progesterone receptors, regulatory T lymphocytes, macrophages, NK cells, dendritic cells

## Seznam zkratek

AABs – asymmetric antibodies	mPRs – membrane progesterone receptors
BMDCs – bone-marrow derived dendritic cells	nAChR – nicotinic acetylcholine receptor
cAMP – cyclic adenosine monophosphate	NK – natural killer cell
CD – cluster of differentiation	NO – nitric oxide
CSF-1 – colony stimulating factor-1	nPR – nuclear progesterone receptor
DBD – DNA binding domain	OXTR – oxytocin receptor
DC SIGN <sup>+</sup> – dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin	PAQRs – progestin and adipoQ (adiponectin) receptors
DCs – dendritic cells	pTreg – peripheral Treg
E2 – estradiol	PGE2 – prostaglandin E2
ER – estrogen receptor	PGRMC – progesterone receptor membrane component
ERK – extracellular-signal-regulated kinases	PHA – phytohemagglutinin
Foxp3 – forkhead box P3	PIBF – progesterone induced blocking factor
G – glycin	PIGF – placenta growth factor
GABA <sub>A</sub> – $\gamma$ -aminobutyric acid	PR – progesterone receptor
GdA – glycodelin A	PRE – progesterone responsive elements
GM-CSF – granulocyte-macrophage colony- stimulating factor	R – arginine
GR – glucocorticoid receptor	RU486 – mifepristone
hCG – human chorionic gonadotropin	SERBP1 – serpine mRNA binding protein 1
Hsp – heat shock proteins	SH2/3 – Src-homology domain
IFN – interferon	StAR – steroidogenic acute regulatory protein
IL – interleukin	Tc – cytotoxic T cells
iNOS – inducible form of nitric oxide synthase	TGF- $\beta$ – transforming growth factor- $\beta$
LBD – ligand binding domain	Th – helper T cells
LDL – low density lipoprotein	TLR4 – toll-like receptor
LH – luteinizing hormone	TNF $\alpha$ – tumor necrosis factor $\alpha$
LIF – leukemia inhibitory factor	Treg – regulatory T cells
MAP2 – microtubule-associated protein 2	tTreg – thymic regulatory T cells
MAPk – mitogen-activated protein kinases	uDCs – uterine dendritic cells
MCs – mast cells	uMCs – uterine mast cells
MHC II – major histocompatibility complex II	uNK – uterine natural killer
moDCs – monocyte-derived DCs	$\sigma$ 1R – sigma-1 receptor

## Obsah

Úvod .....	1
1 Progesteron.....	2
3 Mechanismy genomového (jaderného) působení progesteronu .....	4
4 Mechanismy negenomového (mimojaderného) působení progesteronu.....	6
4.1 Přímý vliv .....	7
4.1.1 Přímý vliv prostřednictvím klasických nPR.....	7
4.1.2 Přímý vliv prostřednictvím neklasických PR.....	7
4.2 Nepřímý vliv.....	10
5 Vliv progesteronu na imunitní buňky.....	11
5.1 Vliv progesteronu na makrofágy .....	11
5.2 Vliv progesteronu na NK buňky .....	13
5.3 Vliv progesteronu na žírné buňky (mastocyty) .....	14
5.4 Vliv progesteronu na dendritické buňky .....	15
5.5 Vliv progesteronu na B lymfocyty .....	16
5.6 Vliv progesteronu na T lymfocyty.....	17
5.6.1 Th lymfocyty a produkce cytokinů .....	17
5.6.2 T regulační lymfocyty .....	19
6 Imunitní onemocnění spojená s těhotenstvím .....	21
Závěr.....	22
Bibliografie.....	23

## Úvod

Těhotenství je z imunologického pohledu výjimečný stav. Savčí plod se vyvíjí přímo v těle matky a není zcela izolován, přes placentu prochází nejen molekuly, ale i celé buňky, které jsou pro maternální imunitní systém cizí. Plod, respektive placenta, se dají přirovnat k transplantátu, který by za jiných podmínek byl odhojen. Tolerance plodu s polovinou antigenů pocházejících od otce zdánlivě popírá imunologická pravidla, těhotenství je ovšem přirozenou cestou zajišťující zachování druhů. Během evoluce se vyvinuly mechanismy umožňující hladký vývoj semialogenního jedince v matčině těle, aniž by byla potlačena jeho schopnost bránit se patogenům. Procesům zajišťujícím tento fenomén však stále ještě dobře nerozumíme.

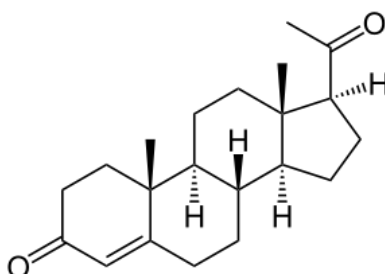
Úspěšný vznik, udržení a ukončení těhotenství je zajištěno mnoha mimořádně komplexními interakcemi mezi endokrinním a imunitním systémem. Pohlavní hormony ovlivňují imunitní reakce na fetomaternálním rozhraní i systémově, pod hormonální kontrolou je imunitní systém vrozený i adaptivní. Progesteron je v samičí reprodukci nenahraditelný. Hladina progesteronu vzrůstá už po ovulaci a dále během těhotenství, připravuje děložní sliznici na implantaci blastocysty, spouští diferenciaci stromálních buněk v deciduální (decidualizaci), stabilizuje interakce plodu s dělohou a má klíčový vliv na celou řadu populací imunitních buněk. Moduluje imunitní posun od zánětlivých Th1 imunitních reakcí, které by mohly způsobit rejekci plodu, k protizánětlivým Th2 odpovědím, které podporují přenos mateřských protilátek do vyvíjejícího se plodu. Podporuje diferenciaci Th2 a T regulačních lymfocytů, děložních NK a dendritických buněk, suprimuje cytotoxicitu NK buněk, snižuje antigen-prezentující kapacitu dendritických buněk, ovlivňuje makrofágy, žírné buňky i B lymfocyty. Mění množství, lokalizaci a vlastnosti imunitních buněk, produkci cytokinů.

Porušení rovnováhy endokrinně-imunologických interakcí má za následek selhání implantace blastocysty či různé patologie těhotenství, jako jsou nitroděložní růstové retardace (IUGR), předčasný porod, preeklampsie a opakované potraty. Dysregulace imunitních funkcí se předpokládá také u idiopatických sterilít a neúspěšných embryotransferů.

Své imunomodulační vlastnosti progesteron realizuje mnoha způsoby. Působí jako transkripční faktor prostřednictvím klasických jaderných progesteronových receptorů nebo ovlivňuje cílové buňky různými jinými způsoby. Cílem předkládané práce je literární přehled vlivu progesteronu na maternální imunitní systém v těhotenství a shrnutí dosavadních poznatků o mechanismech jeho působení.

# 1 Progesteron

Progesteron, chemickým názvem pregn-4-en-3,20-dion (P4), je steroidní ženský pohlavní hormon, nejvýznamnější a nejhojnější ze skupiny gestagenů. Základem steroidních hormonů je steranové jádro (cyklopentano-perhydrofenantren) složené ze 17 uhlíků. Gestageny jsou steroidní hormony s 21 uhlíky (tzv. pregnan skeleton, viz obr. 1), váží se na progesteronové receptory (PR) a aktivují je, mají antiestrogenní a antigonadotropní vlastnosti. Gestageny jsou produkovány především žlutým tělískem vaječnicků v luteální fázi menstruačního cyklu a placentou během těhotenství, řídí menstruační a estrální cyklus a průběh těhotenství. V menší míře je progesteron vytvářen také kůrou nadledvin (Feder et al., 1968), varlaty (Tanabe et al., 1979), gliovými buňkami mozku (Jung-Testas et al., 1989) a Schwannovými buňkami periferních nervů (Koenig et al., 1995), proto je možné řadit ho i mezi neurosteroidy.



Obr. 1: Chemická struktura progesteronu

Převzato z: NEUROtiker, 2007. Structure of progesterone. In: Wikipedie [online]. [cit. 7.3.2016].

Pod licencí Public Domain dostupné z: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Progesteron.svg>

Ve všech orgánech, které produkují steroidní hormony, probíhá syntéza po stejných biosyntetických drahách (viz obr. 2), ale typ a množství syntetizovaných a sekretovaných steroidů závisí na orgánově specifické expresi enzymů. Například vaječnický neobsahuje 21  $\alpha$ -hydroxylázy a 11  $\beta$ -hydroxylázy, takže nejsou schopny produkovat glukokortikoidy a mineralokortikoidy (Hanukoglu, 1992).

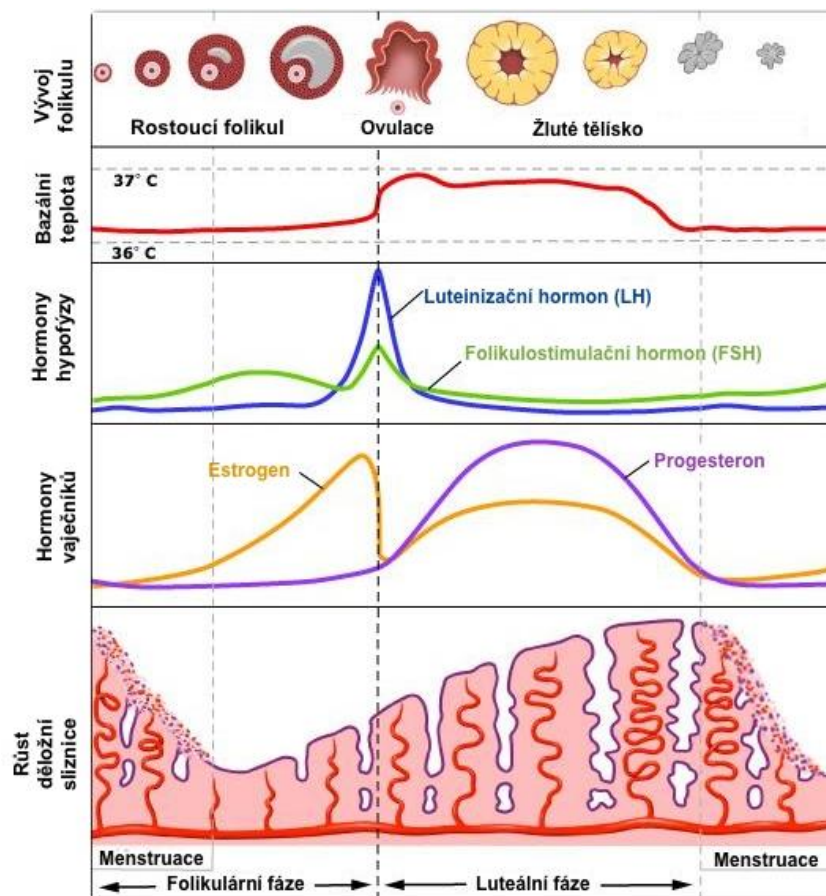
Společným prekurzorem všech steroidních hormonů je cholesterol. Přednostně ve formě LDL (low density lipoprotein) je cholesterol krevní plazmy vázán na membránové receptory a pohlcován do vezikulů, které následně fúzí s lyzozomy. Lyzozomální hydrolázy rozloží proteinovou složku LDL a lipázy deesterifikací převedou cholesterol na částečně rozpustnou volnou formu, ve které je uvolněn do cytoplazmy a transportován do mitochondrie (Brown a Goldstein, 1976). Přesun cholesterolu přes dvojitou mitochondriální membránu je důležitým krokem limitujícím rychlost celé steroidogeneze. Je řízen cytosolickou a mitochondriální hladinou  $Ca^{2+}$  (Cherradi et al., 1996) a hlavní protein zodpovědný za transport cholesterolu z vnější do vnitřní mitochondriální membrány, je steroidní akutní regulační protein (StAR). Interakce StAR s vnější mitochondriální membránou způsobí konformační změnu proteinu a vytvoření kapsy, do které se váže cholesterol (Miller, 2007). Na vnitřní mitochondriální membráně je cholesterol konvertován na pregnenolon, prekurzor všech dalších steroidních hormonů.



Tuto konverzi katalyzuje cytochrome P450 side chain cleavage (P450<sub>scc</sub>), enzym odštěpující postranní řetězce cholesterolu. Poté je pregnenolon převeden na progesteron pomocí enzymu 3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenázy/izomerázy, který je asociován s hladkým endoplazmatickým retikulem (Ravindranath et al., 1992).

Progesteron cirkuluje v krevním oběhu vázán na albumin (50–54 % progesteronu) a transkortin (43–48 % progesteronu). Má relativně krátký poločas rozpadu, pouhých pět minut v lidském těle. Progesteron je degradován v játrech na sulfáty a glukuronidy, které jsou vylučovány močí. Cirkulující progesteron je převeden na mineralokortikoidní deoxykortikosteron pomocí renal 21-hydroxylace. Během luteální fáze, těhotenství a při exogenním podávání progesteronu, většina cirkulujícího deoxykortikosteronu vzniká prostřednictvím této dráhy a může způsobovat nežádoucí vedlejší účinky (Taraborrelli, 2015).

V průběhu menstruačního cyklu je hladina progesteronu relativně nízká během předovulační fáze, stoupá po ovulaci a zůstává vyšší během luteální fáze (viz obr. 2). Pokud dojde k těhotenství, hCG (human chorionic gonadotropin) zpočátku udržuje hladinu progesteronu stimulací jeho produkce žlutým tělískem. Po luteo-placentárním posunu v 7-9 týdnu těhotenství produkci progesteronu převezme placenta (Costea et al., 2000).



Obr. 2: Hladiny progesteronu během menstruačního cyklu

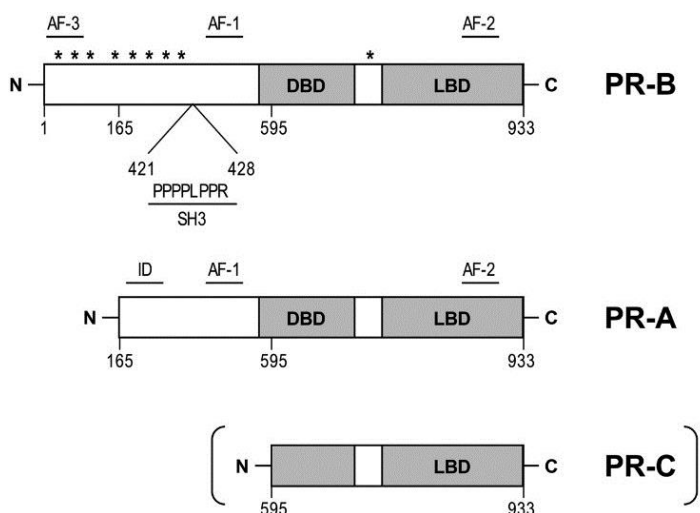
Převzato z: Anonym. Menstruační cyklus. In: Podpora plodnosti.cz [online]. [cit. 27.4.2016].  
Dostupné z: [http://www.podpora-plodnosti.cz/fotky30050/obrazky\\_clanky/Menstruacni-cyklus.jpg](http://www.podpora-plodnosti.cz/fotky30050/obrazky_clanky/Menstruacni-cyklus.jpg)

### 3 Mechanismy genomového (jaderného) působení progesteronu

Lipofilní molekula progesteronu snadno difunduje buněčnými membránami a poté interaguje se specifickými jadernými progesteronovými receptory (nuclear progesterone receptors; nPR). Inaktivní forma nPR se nachází v cytoplazmě ve vazbě s proteiny teplotního šoku (heat shock proteins; Hsp90) v komplexu s dalšími proteiny. Navázáním hormonu se změní konformace receptoru na aktivní formu, je uvolněn z Hsp90 a přechází do jádra (Smith et al., 1992). V jádře receptor homodimerizuje (Tsai et al., 1988) a váže se na palindromickou DNA sekvenci v promotorové oblasti cílového genu zvanou Progesterone Responsive Elements (PRE) (Rayasam et al., 2005). Receptor aktivuje zhruba 300 různých koregulátorů genové exprese, aktivátorů či inhibitorů (Lonard et al., 2007).

nPR se vyskytují ve více izoformách. Isoformy PR-B (120 kDa) a PR-A (94 kDa) jsou obě transkribovány ze stejného genu použitím dvou odlišných promotorů či alternativní iniciací translace, izoforma PR-A je na N-konci o 164 aminokyselin kratší než PR-B (Vegeto et al., 1993). PR-B a PR-A jsou modulární proteiny obsahující centrální DNA vazebnou doménu (DNA-binding domain; DBD), C-koncovou doménu vážící ligand – progesteron (ligand-binding domain; LBD) a variabilní N-koncovou doménu (viz obr. 3). Subdomény zakotvené v této modulární struktuře jsou nezbytné pro aktivaci či inhibici transkripce a dimerizaci receptoru (Heneghan et al., 2006).

PR-A a B se nachází ve žlutém tělísku lidí (Ottander et al., 2000), v myších ovariích (Gava et al., 2004), krysím mozku (Kato et al., 1993) atd. Třetí izoforma PR-C (60 kDa) se nachází v lidském myometriu (Condon et al., 2006) a placentě (Taylor et al., 2009). Tato izoforma umístěná v cytoplazmě postrádá první zinkový prst DBD, ale stále je schopna vázat progesteron (Wei et al., 1996). PR-C a další známé izoformy 60 kDa cytoplazmatických PR (PR-M, S, T), které postrádají schopnost vazby DNA, jsou pravděpodobně zapojeny do jiných signálních drah (viz následující kapitola) (Taylor et al., 2009). PR-C může být ve vazbě s PR-B, čímž redukuje vazebnou kapacitu PR-B pro vazbu dalších transkripčních faktorů a snižuje tak jeho transkripční aktivitu. Tímto mechanismem PR-C přispívá k nástupu porodu, během kterého je jeho koncentrace zvýšená (Condon et al., 2006). Po porodu nastává pokles všech 5-ti známých izoform PR (PR-A, B, C, M, S) přítomných v decidui (Taylor et al., 2009).

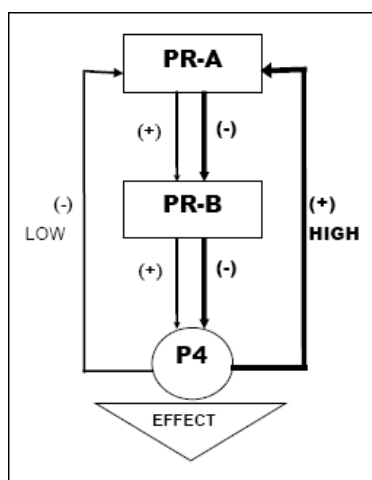


Obr. 3: Schéma modulární struktury izoform lidského PR. DBD – DNA binding domain, LBD – ligand binding domain, AF-1,2,3 activation domain, ID – inhibitory domain. Na prolin bohatá sekvence reagující s SH3 doménou Src kinázy je podtržená, místa fosforylace označena hvězdičkou, převzato z: Gellersen et al., 2008

PR-B především aktivuje transkripci genů v reakci na progesteron, zatímco PR-A působí ve většině buněčných kontextů jako represor aktivity PR-B (Wen et al., 1994). Lidský PR-A je schopen inhibovat také transkripci zprostředkovanou receptory glukokortikoidů, androgenů a mineralokortikoidů, ale není obecným represorem (Vegeto et al., 1993).

Funkce PR-A a PR-B velmi záleží na buněčném typu a kontextu promotoru cílového genu. PR-B je obecně (na klasických PRE) mnohem silnější aktivátor, z části díky přítomnosti třetí aktivační domény (AF-3), avšak PR-A může být také silným aktivátorem za specifických podmínek (Richer et al., 2002). Tato dvojrole PR-A, schopnost inhibovat či aktivovat transkripci dle podmínek, je možným mechanismem vzniku rozdílných buněčných odpovědí na jediný hormon a zároveň vysvětlením existence více izoform PR (Vegeto et al., 1993).

Různý poměr obou izoform během reprodukčního cyklu může způsobovat odlišný vliv progesteronu na ženský reprodukční trakt. V lidském žlutém tělísku je hladina mRNA pro PR-B 100-1000 krát nižší než mRNA pro PR-A a nejnižší je ve střední luteální fázi (Ottander et al., 2000). Podíl koncentrací mRNA PR izoform je závislý na koncentraci steroidů. Předpokládá se, že vysoká koncentrace progesteronu v luteální buňce indukuje expresi PR-A, což potlačuje expresi PR-B a tak je efekt progesteronu potlačen. Naopak nízká koncentrace progesteronu může potlačovat expresi PR-A, čímž vzrůstá exprese PR-B a efekt progesteronu na cílovou buňku je posílen (viz. obr. 4) (Misao et al., 1998). Podávání RU486, antagonisty progesteronu, vede k potlačení obou izoform PR a nižší míře ovulace u myši (Shao et al., 2003).



Obr. 4: Schéma vlivu vysoké (silná čára) a nízké (slabá čára)

koncentrace progesteronu na expresi izoform PR, převzato z: *Rekawiecki et al., 2008*

Přítomnost jaderného lokalizačního signálu a exportního signálu v nPR způsobuje neustálé přesuny mezi jádrem a cytoplasmou (Tyagi et al., 2013). V mnoha buňkách je v této dynamické rovnováze upřednostňováno jádro. PR-A je i bez hormonální stimulace většinou lokalizován v jádře a po navázání ligandu je k jaderné lokalizaci nucen ještě více, zatímco PR-B se akumuluje v jádře až po navázání progesteronu (Li et al., 2005).

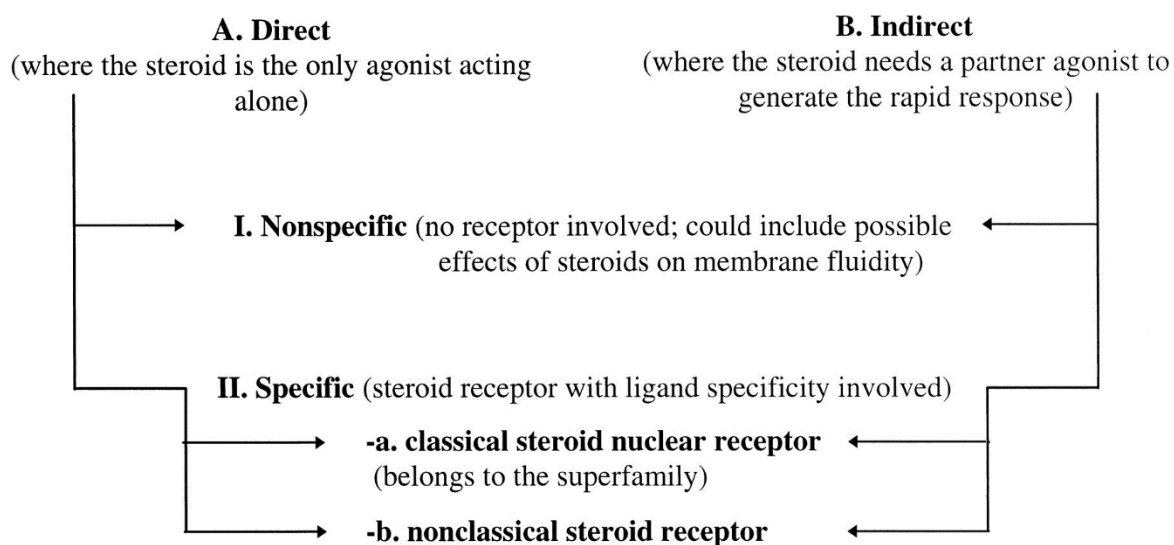
## 4 Mechanismy negenomového (mimojaderného) působení progesteronu

Ne všechny účinky progesteronu jsou zprostředkovány PR receptory, stejně jako jiné steroidní hormony progesteron vyvolává také rychlé spuštění různých signálních drah v řádu minut či sekund, nezávisle na transkripční genomové regulaci (Losel et al., 2003). Některé z těchto negenomových akcí jsou zprostředkovány aktivací cytoplazmatické frakce jaderného progesteronového receptoru (nPR) (Boonyaratanakornkit et al., 2007), rychlé reakce na progesteron jsou ale zjištěny i v buňkách a tkáních postrádajících nPR; v krevních destičkách, krysím žlutém tělísku a u nPR knockout myši (Bar et al., 2000; Frye et al., 2006; Park-Sarge et al., 1995).

Pro rozlišování těchto negenomových reakcí na steroidní hormony bylo navrženo několik kritérií: (i) jsou příliš rychlé, aby byly kompatibilní s transkripční aktivací a syntézou proteinů; (ii) nejsou zrušeny přidáním inhibitorů transkripce nebo translace; (iii) někdy jsou pozorovány v izolovaných buněčných membránách nebo v bezjaderných buňkách (erytrocyty, krevních destičky); (iv) jsou indukovatelné steroid-proteinovými konjugáty, které neprochází buněčnou membránou a (v) obecně nejsou blokovány antagonisty nukleárních steroidních receptorů (Losel et al., 2003).

První objevenou rychlou reakcí progesteronu byl okamžitý anestetický účinek intraperitoneální injekce progesteronu u krys (Selye, 1942). Mezi další rychlé negenomové akce progesteronu patří například zrání oocytů obojživelníků (Ferrell, 1999), stimulace akrozomální reakce spermie – progesteron lidské folikulární tekutiny aktivuje vápníkový kanál a následný influx vápníku spouští akrozomální reakci spermie (Blackmore et al., 1990) či modulace aktivity neurotransmiterových receptorů a neuronální dráždivosti (McEwen, 1991).

Na "Prvním mezinárodním zasedání o rychlé reakci na steroidní hormony", které se konalo v německém Mannheimu roku 1998 byla navržena klasifikace rychlých odpovědí na steroidní hormony (viz. obr. 5) (Falkenstein et al., 2009).



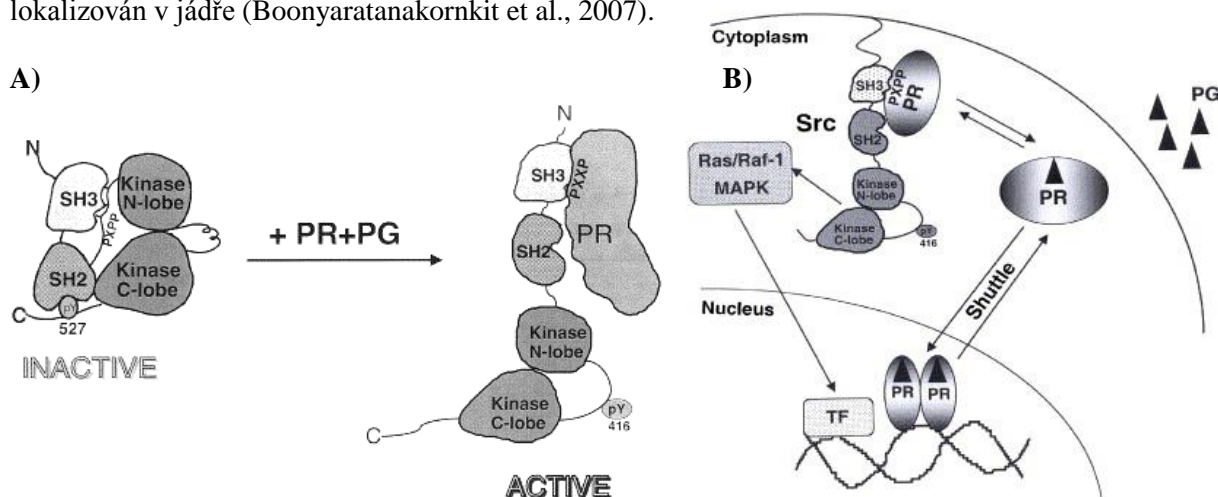
Obr. 5: Mannheimská klasifikace rychlých odpovědí na steroidy, upraveno podle: Falkenstein et al. 2009

## 4.1 Přímý vliv

Mechanismem přímého vlivu bez použití receptorů může být zabudování steroidních hormonů do membrány a následné ovlivnění její fluidity. Progesteron ve vysokých koncentracích snižuje tekutost membrány, agreguje membránové váčky, způsobuje jejich fúzi a zvyšuje tak propustnost membrány. Testosteron a estrogen mají ve stejných koncentracích mizivý vliv na membránu, a tak v tomto případě je reakce specifická i bez přítomnosti receptorů (Shivaji a Jagannadham, 1992).

### 4.1.1 Přímý vliv prostřednictvím klasických nPR

Cytoplazmatická frakce klasických nPR je kromě transportu do jádra zapojena ještě do další signální dráhy. PR-A a PR-B obsahují krátký na prolin bohatý motiv (viz obr. 3), který po vazbě progesteronu zprostředkovává interakci mezi PR a Src-homology 3 (SH3) doménou Src tyrosin kináz v plazmatické membráně. Tato interakce spouští rychlou aktivaci MAP kinázové (mitogen-activated protein kinases) dráhy (viz obr. 6), která zcela chybí po mutaci polyprolin motivu v PR. Na rozdíl od PR-B, PR-A v lidských buňkách rakoviny prsu tuto dráhu neaktivuje, pravděpodobně proto, že je dominantně lokalizován v jádře (Boonyaratanakornkit et al., 2007).



Obr. 6: A) Navrhovaný mechanismus PR aktivace Src kináz. Prolin bohatý motiv (PxxP) N-koncové domény PR interaguje s SH3 doménou Src a aktivuje ji. B) Model duální fce PR. V cytoplasmě působí PR jako aktivátor Src dráhy signální transdukce a v jádře jako transkripční faktor. Tyto dvě dráhy se vzájemně ovlivňují. Převzato z: Leonhardt et al., 2003

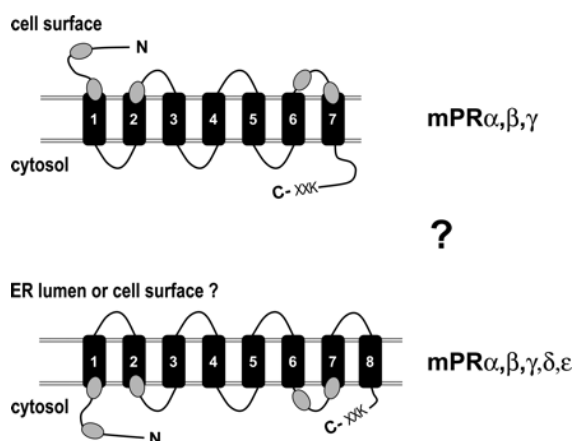
Předmětem debaty zůstává, zda PR zprostředkovaná aktivace Src vyžaduje také přítomnost estrogenového receptoru (estrogen receptor; ER). V buňkách rakoviny prsu a stromálních buňkách endometria potkanů přímá interakce PR-B s inaktivní formou ER podporuje proliferaci v reakci na progesteron (Ballaré et al., 2006).

### 4.1.2 Přímý vliv prostřednictvím neklasických PR

Účinek progesteronu zprostředkovávají také neklasické PR receptory: hlavně rodina membránových PR (mPRs) a membránové komponenty PR (progesterone receptor membrane component; PGRMC).

Rodina **mPRs** patří do širší rodiny proteinů PAQRs - receptory progesterinu a adiponektinu (progesterin and adipoQ receptors; PAQRs), vysoce konzervované od eubakterií až k vyšším savcům (Tang et al., 2005). Tři typy mPRs (mPR $\alpha$ ,  $\beta$  a  $\gamma$ ), původně naklonované z rybích ovarii, byly identifikovány u mnoha druhů včetně lidí (Zhu et al. 2003b). mPR jsou umístěny na buněčném povrchu a například v reprodukčních orgánech ovcí i v membráně endoplazmatického retikula, kde po aktivaci ligandem způsobují mobilizaci Ca<sup>2+</sup> (Ashley et al., 2006). Exprese mPR je tkáňově specifická, mPR $\alpha$  je hlavně v reprodukčních orgánech, mPR $\beta$  v nervovém a mPR $\gamma$  v trávicím systému (Zhu et al., 2003a). Lokalizace mPR v reprodukčním systému, hypotalamu a hypofýze ovcí ukazuje, že se mPRs mohou podílet na kontrole samičích reprodukčních funkcí (Ashley et al., 2006).

mPR byly považovány za receptory spojené s G proteiny se 7 transmembránovými doménami a extracelulárně umístěným N-koncem (Zhu et al. 2003b). Poté bylo zpochybněno umístění mPR do plazmatické membrány, jejich spojení s G proteiny i schopnost reagovat na progesteron (Krietsch et al., 2006). Studie heterologní exprese lidských mPR kvasinkami znovupotvrdila mPR jako membránové receptory reagující na progesteron, ovšem ukázala, že pro realizaci jeho vlivu nezbytně nepotřebují spojení s G proteiny. Zároveň byly objeveny ještě mPR  $\delta$  a  $\epsilon$  a celá skupina mPR byla přeargována do druhé třídy PAQRs, jako proteiny s osmi transmembránovými doménami. Sekvence konzervativní pro rodinu PAQR jsou podle tohoto modelu umístěny do cytoplazmy (viz. obr. 7) (Smith et al. 2008).



Obr. 7: Navrhovaná topologie mPRs. Konzervované sekvence rodiny PAQRs označeny šedými ovály, převzato z: Gellersen et al., 2008

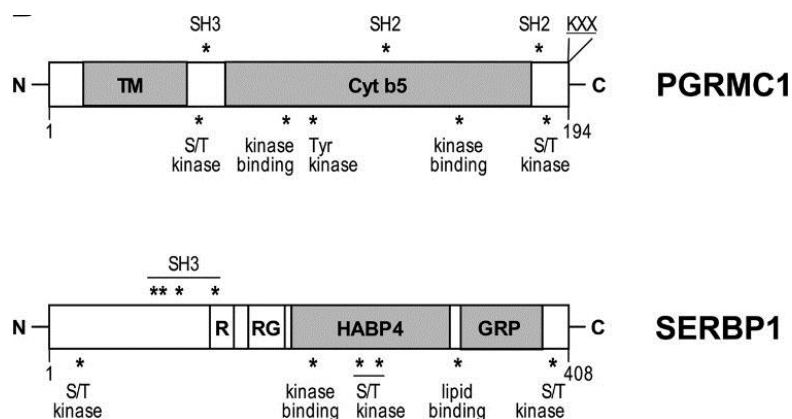
Po vazbě progesteronu mPRs modulují aktivitu různých kaskád signální transdukce; stimulují ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinases) a p38 MAPK (Hanna et al., 2006), inhibují produkci cAMP (cyklický adenosinmonofosfát) skrze G $\alpha$  inhibiční protein (Nakashima et al., 2015) a mobilizují intracelulární Ca<sup>2+</sup> (Ashley et al., 2006; Zhu et al., 2003a, 2003b). Skrze mPR $\alpha$  progesteron indukuje maturaci oocytů, zvyšuje motilitu spermií u ryb (Tubbs et al., 2010) a realizuje protizánětlivé účinky T regulačních lymfocytů. V den porodu klesá množství T regulačních lymfocytů a zároveň přestávají exprimovat mPR $\alpha$  (Areia et al., 2016).

**PGRMC**(progesterone receptor membrane component)1 a PGRMC2 jsou strukturně odlišné od mPRs i nPR (Raza et al., 2001). PGRMC1 (28 kDa) obsahuje jednu N koncovou transmembránovou doménu, cytochrome b5 doménu a tři místa pro vazbu SH2 a SH3 (Src-homology) domén Src kináz (viz obr. 8) (Cahill, 2007).

V prasečích hepatocytech, kde byla objevena poprvé (Meyer et al., 1996), je PGRMC1 lokalizována v membráně endoplazmatického retikula a Golgiho aparátu (Falkenstein et al., 1998), dále se nachází ve vnitřní akrozomální membráně prasečích spermií (Lösel et al., 2004), v jádře HeLa buněk (Beausoleil et al., 2004), granulózních a luteálních buňkách krys (Cai a Stocco, 2005) a lidí (Sasson et al., 2004).

Expres PGRMC je řízena ovariálními steroidy. PR knock-out myši vykazují zvýšenou hladinu PGRMC1 v mozku ve srovnání s wild-type sourozenci stejného vrhu (Krebs et al., 2000) a množství mRNA pro PGRMC1 se dramaticky snižuje ve střední sekreční fázi cyklu (Talbi et al., 2006).

Obr. 8: Modulární struktura PGRMC1 a SERBP1. Místa vazby SH2 a SH3 domén Src kináz a místa fosforylace tyrozinovými (Tyr) a serin/threoninovými (S/T) kinázami jsou značena hvězdičkou. Převzato z: Gellersen et al., 2008



Ve spontánně immortalizovaných granulózních krysích buňkách je minimálně část PGRMC1 umístěna na vnější povrch plazmatické membrány. Tuto translokaci zprostředkovává serpina mRNA binding protein 1 (SERBP1) (Peluso et al., 2006). SERBP1 je multifunkční protein, který se váže na mRNA inhibitor aktivátoru plazminogenu 1 (serpine1) a reguluje tak jeho stabilitu (Heaton et al., 2001). SERBP1, interakční partner PGRMC1, má centrální hyaluronan vázící doménu (hyaluronan-binding protein 4; HABP4) a motivy typické pro RNA vázící proteiny: N-terminální R a G (arginin a glycin) bohaté sekvence a C-terminální G bohatá sekvence (na obr. 8 označeno jako GRP) (Heaton et al., 2001; Huang et al., 2000). SERBP1 byl izolován z krysích granulózních buněk pomocí specifické protilátky proti progesteron vázající doméně nPR, proto se myslelo, že SERBP1 má schopnost vázat progesteron (Peluso, 2001). Je to ale teprve celý komplex PGRMC1 a SERBP1, který váže progesteron a zprostředkovává jeho anti-apoptotický účinek v granulózních buňkách a buňkách žlutého tělíska a další vlivy během reprodukčního cyklu a raného těhotenství (Zhang et al., 2008).

Podobně jako mPRs (vyjma mPR $\epsilon$ ), PGRMC také obsahují lysinový zbytek na třetí pozici od C konce (viz obr. 8, označeno KXX), důležitý pro umístění do membrány endoplazmatického retikula (Jackson et al., 1990). Spojení s heteromerním proteinem – např. SERBP1, zakrývá tento motiv a způsobuje translokaci PGRMC1/2, do plazmatické membrány (Nasu-Nishimura et al., 2006; Ren et al., 2003).

Kromě role v signalizaci progesteronu, ovlivňuje PGRMC1 široké spektrum biologických funkcí, včetně steroidogeneze, metabolismu steroidů (Suchanek et al., 2005), buněčné homeostázy (Hughes et al., 2007), přežití a reakce na stres (Cahill, 2007). Z exprese PGRMC1/2 a SERBP1 v krysích vaječnicích se dá usuzovat jejich role při formování primordiálních folikulů (Nilsson et al., 2006). Je možné, že

subcelulární pozice PGRMC1 je závislá na fázi buněčného cyklu (Lösel et al., 2008). SERBP1 je v lidských buňkách rakoviny vaječníku exprimován ve zvýšené míře a míra exprese je asociována s progresem nádoru a metastázemi (Koensgen et al., 2007).

Cytosol a mikrotubuly v krysím mozku obsahují **MAP2** (microtubule-associated protein 2), který po vazbě pregnenolonu stimuluje sestavení mikrotubulů nezbytných pro růst a zachování neuronálních axonů a dendritů (Yamamoto et al., 1983). MAP2 se srovnatelnou afinitou váže také progesteron, ten však nestimuluje polymeraci mikrotubulů, ale naopak antagonizuje účinek pregnenolonu (Fontaine-Lenoir et al., 2006).

Progesteron inhibuje aktivitu nikotinového receptoru acetylcholinu (nAChR) (Valera et al., 1992) a  $\sigma_1$ R sigma-1 receptoru (Monnet a Maurice, 2006). Pro alosterickou inhibici nAChR jsou třeba mikromolární koncentrace progesteronu, ale lidský  $\sigma_1$ R váže progesteron s afinitou až 30 nM (Collier et al., 2007).  $\sigma_1$ R (25 kDa) má jednu transmembránovou doménu, po aktivaci se přesouvá z endoplazmatického retikula do plazmatické membrány a moduluje hladinu interacelulárního  $Ca^{2+}$  a různé systémy neurotransmiterů (Hayashi et al., 2000). Navázání progesteronu na  $\sigma_1$ R je jedna z cest jak progesteron chrání neurony při ischemii (Cai et al., 2008). V buňkách rakoviny prsu a u řady dalších nádorových onemocnění je exprese  $\sigma_1$ R zvýšená (Palmer et al., 2007).

## 4.2 Nepřímý vliv

Nepřímým negenomovým vlivem progesteronu přes neklasické receptory jsou například  $GABA_A$  receptorem (receptor kyseliny  $\gamma$ -aminomáselné) zprostředkované analgetické účinky.  $GABA_A$  receptory jsou cílem klinicky významných léků a mnoha pregnanových steroidů, z nichž některé jsou syntetizovány de novo v mozku. Progesteron může specificky modulovat jejich funkci a navozovat tak protikřečové, uklidňující, analgetické, a anestetické účinky (Belelli a Lambert, 2005). Alopregnanolon stimuluje proliferaci hlodavčích a lidských neurálních progenitorů skrze  $GABA_A$  receptorem aktivované napětím řízené  $Ca^{2+}$  kanály L-typu (Wang et al., 2005) a urychluje myelinizaci v kulturách krysího mozečku skrze nPR a  $GABA_A$  receptory (Ghoumari et al., 2003).

Progesteron brání oxytocinu v indukci myometriálních kontrakcí. Alosterické bránění přímou vazbou progesteronu na receptor oxytocinu (OXTR) probíhá u hlodavců (Grazzini et al., 1998) a ovcí (Dunlap a Stormshak, 2004). U lidí metabolity progesteronu interagují s  $GABA_A$  receptory myometria, což je jeden ze způsobů jak progesteron a jeho metabolity inhibují kontrakce (Putnam, 1991). Pokles progesteronu je důležitý pro začátek porodu mnoha savců a není zcela zřejmé, jak je porod spouštěn u lidí, kde k poklesu progesteronu nedochází. V lidském myometriu přítomné mPR $\alpha$  a mPR $\beta$  s jsou spojeny s inhibičními G proteiny, snižují hladiny cAMP a zvyšují fosforylaci lehkého myosinového řetězce, což usnadňuje myometriální kontrakce. Aktivace mPRs vede k poklesu koaktivátoru 2 steroidního receptoru a k transaktivaci PR-B, dochází tedy také k nepřímému vlivu přes klasické nPRs. mPRs takto mohou zprostředkovat funkční pokles progesteronu a napomoci iniciaci porodu (Karteris et al. 2006).



## 5 Vliv progesteronu na imunitní buňky

### 5.1 Vliv progesteronu na makrofágy

Monocyty a makrofágy jsou hlavní zástupci vrozeného imunitního systému. Přívod monocytů, jejich diferenciace na makrofágy a funkce v reprodukčním traktu je ovlivňována těhotenskými hormony.

Makrofágy v děloze mění během estrálního cyklu a raného těhotenství svou hustotu a morfologii. Nejnižší hustota je během diestru a pod vlivem estrogenu vzrůstá na 20 % stromálních buněk dělohy během proestru (De a Wood, 1990; Hunt et al., 1985; Pollard et al., 1998). Během estrálního cyklu myši se mění také rozložení makrofágů. Během diestru jsou rozmístěny rovnoměrně, během proestru a estru je nejvyšší koncentrace makrofágů v subepiteliálním stromatu. Distribuci makrofágů ovlivňuje progesteron spolu s estradiolem, po ovarioektomii množství makrofágů v děloze klesá (De a Wood, 1990). V průběhu těhotenství se zvyšuje hustota děložní populace makrofágů u myši, krys i lidí (Hunt a Robertson, 1996).

U myši nedostatek makrofágů po početí způsobuje nemožnost implantace embrya a sníženou hladinu progesteronu v plasmě, tato neplodnost se dá vyřešit aplikací exogenního progesteronu (Care et al., 2013). Množství makrofágů v myši děloze během časného těhotenství vzrůstá a krátce před porodem klesá, množství cervikálních makrofágů naopak vzrůstá před porodem. Tento přesun makrofágů z dělohy do děložního hrdla přispívá k ukončení těhotenství (Mackler, 1999). Makrofágy jsou důležitými regulátory aktivity trofoblastu, podporují tkáňovou přestavbu a angiogenezi (Cervar et al., 1999). Během těhotenství vykazují deciduální makrofágy imunopresivní fenotyp, který je nutný pro udržení imunologické homeostázy a tolerance plodu. Během vývoje placenty se makrofágy koncentrují kolem spirálních tepen a podporují cévní remodelaci produkcí proangiogenních faktorů. Na konci těhotenství se aktivované makrofágy zapojují do přípravy děložního krčku pro porod (Lee et al., 2012).

Makrofágy neexprimují PR ani ER (King et al., 1996). Vliv progesteronu může být zprostředkován pomocí mPR. Změny exprese mPR $\alpha$  v makrofázích jsou spojeny se vznikem zánětlivých odpovědí a mohou být jedním z mechanismů funkčního poklesu progesteronu spouštějícího porod lidí (Lu et al., 2015). Další způsob hormonálního řízení makrofágů je nepřímou modulací hladiny cytokinů a růstových faktorů, které makrofágy ovlivňují a mění jejich sekreční profil. Epiteliální buňky dělohy odpovídají na signály ovariálních steroidních hormonů produkcí řady cytokinů, které přivádí makrofágy, regulují jejich životnost diferenciaci a funkci.

Myší děložní epitheliální buňky pod vlivem steroidních hormonů produkují CSF-1 (Colony stimulating factor-1) a GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor). Glykoprotein CSF-1 je růstový faktor nutný pro chemotaxi, proliferaci a diferenciaci monocytů v makrofágy, je syntetizován po stimulaci estrogenem a progesteronem (Pollard et al., 1987). CSF-1 je klíčovým regulátorem populace děložních stromálních makrofágů, u myši s deficitem CSF-1 je jejich počet výrazně snížen

(Pollard et al., 1991, 1998). Avšak i v nepřítomnosti CSF-1 se hustota populace stromálních makrofágů během estrálního znatelně cyklu mění, což naznačuje zapojení dalších pro makrofágy chemoatraktivních chemokinů. V době implantace je zvýšená lokální produkce CSF-1 ve tkáních na fetomaternálním rozhraní u lidí (Kauma et al., 1991). U CSF-1 deficientních myší je nižší frekvence těhotenství a nižší počet mláďat v jednom vrhu. Míra implantace oplodněných oocytů je normální, stejně tak sérová koncentrace progesteronu a průběh těhotenství je normální, ale mají výrazně nižší míru ovulace oproti wild-type myším. Hlavní rolí CSF-1 v samičí reprodukci je vliv na regulaci vývoje folikulů, frekvenci a rychlost ovulace (Cohen et al., 1997).

Tvorba GM-CSF je stimulována estrogenem a progesteronem mírně inhibována. Produkce GM-CSF kolísá v průběhu estrálního cyklu, nejvyšší je v estru. Vlivy estrogenu a progesteronu na uvolňování GM-CSF jsou alespoň částečně zprostředkovány na transkripční úrovni (Robertson et al., 1996).

Makrofágy ve vaječnicích a varlatech jsou v těsné blízkosti steroidogenních buněk (Cohen et al., 1997). Přednostně jsou lokalizovány na kortikálním povrchu preovulačních folikulů. Přispívají k ruptuře folikulů – ovulaci a následné přeměně folikulu ve žluté tělísko (Brannstrom et al., 1994). Makrofágy přispívají k regulaci steroidogeneze. Granulózní buňky a buňky žlutého tělíska po kultivaci s makrofágy produkují více progesteronu (Halme et al., 1985). Uvnitř fyziologicky se vyvíjejícího žlutého tělíska jsou makrofágy těsně vedle endoteliálních buněk a vytváří proangiogenní marker Tie2. Při depleci makrofágů dochází ke změnám genové exprese endoteliálních vaskulárních růstových faktorů a závažnému narušení luteální mikrovaskulární sítě, která je potřebná pro produkci progesteronu. Narušení interakcí mezi makrofágy a endoteliálními buňkami při vývoji žlutého tělíska přispívá k neplodnosti u žen s luteální insuficiencí (Care et al., 2013).

Progesteron u fetálních makrofágů lidské placenty zvyšuje produkci imunosupresivního PGE2 (prostaglandin E2) (Yagel et al., 1987). PGE2 působí jako autokrinní inhibitor makrofágů, ve kterých blokuje produkci prozánětlivého cytokinu TNF $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ ) (Kunkel et al., 1988). Vlivem progesteronu je v endometriu tvořen imunomodulační lipokalin glykodelin A (GdA). Aktivací vnitřní mitochondriální dráhy závislé na kaspázách GdA spouští apoptózu monocytů. Odstraňováním monocytů GdA brání zánětu ve fetomaternálním rozhraní, po diferenciaci v makrofágy už na ně ale nemá žádný inhibiční vliv (Alok a Karande, 2009).

Progesteron omezuje schopnost lidských a myších makrofágů produkovat silné efektorové molekuly jako jsou oxid dusnatý (NO) a interleukin-1 (IL-1), které jsou nebezpečné pro úspěšné dokončení těhotenství. NO je silný a univerzální volný radikál syntetizován inducibilní NO syntázou (inducible form of nitric oxide synthase; iNOS) makrofágy, mastocyty a dalšími buňkami. Imunoreaktivita iNOS se mění během reprodukčního cyklu. Progesteron účinně potlačuje aktivaci iNOS, hromadění specifické mRNA a produkci NO (Huang et al., 1995; Miller et al., 1996). IL-1 je prozánětlivý cytokin sekretován aktivovanými makrofágy a monocyty. Vyšší hladiny progesteronu během luteální fáze cyklu sekreci

IL-1 zvyšují, ale ještě vyšší hladiny progesteronu během těhotenství ji snižují na stejnou úroveň jako před ovulací (Polan et al., 1990).

Progesteron potlačením exprese microRNA miR-155 a lipopolysacharidu inhibuje TLR4 (toll-like receptor 4) spouštěnou aktivaci myších makrofágů. Progesteron u makrofágů potlačuje expresi miR-155, tím je zvýšena exprese supresorů cytokinové signalizace (suppressor of cytokine signaling, SOCS), což vede k inhibici TLR indukovaných cytokinů IL-6 a IFN- $\beta$  (Sun et al., 2012).

Makrofágy regulují přebytky hCG, které mohou být teratogenní. Lidské makrofágy tak mohou pohlcovat a degradovat hCG v takovém časovém období, aby gonadogeneze plodu byla chráněna před přebytkem hCG (Katabuchi a Ohba, 2008; Sonoda et al., 2005).

## 5.2 Vliv progesteronu na NK buňky

NK buňky (natural killer cells) jsou schopny zabít nádorové a virově infikované buňky, které mají málo MHC I. Jsou částí vrozené (nespecifické) imunity. Zároveň jsou druhem lymfocytů a jejich aktivita je velmi podobná aktivitě cytotoxických T lymfocytů.

Progesteron v endometriu indukuje tvorbu glykodelinu A, který u NK buněk aktivací vnitřní mitochondriální dráhy spouští apoptózu nezávisle na kaspázách (Alok a Karande, 2009). Nejasné zůstává působení progesteronu na populaci specializovaných děložních NK buněk (uterine natural killer; uNK), CD56<sup>bright</sup>/CD16<sup>-</sup>. uNK jsou přechodně dominantní populací leukocytů v endometriu v pozdní sekreční fázi menstruačního cyklu a během časného těhotenství mnoha savců včetně lidí (Croy et al., 2006). Nárůst uNK byl přičítán právě vlivu progesteronu.

uNK jsou malé a agranulární v proliferační fázi, po ovulaci v sekreční fázi proliferují, zvětší se a jsou více granulované (Spornitz, 1992). Vrchol expanze uNK nastává mezi 6. a 12. dnem gestace u myší (Hatta et al., 2011). uNK jsou schopné modulovat funkci T lymfocytů na fetomaternálním rozhraní skrze expresi glykodelinu A a galektinu 1 (Koopman et al., 2003). Na základě období, kdy uNK exprimují angiotenzinové receptory a atriální natriuretický peptid, lze předpokládat, že se podílí na změně krevního tlaku mezi 5. a 12. dnem těhotenství u myší (Hatta et al., 2011). Hlavní funkcí uNK buněk je regulace cévní remodelace dělohy. Jsou bohatým zdrojem růstových a proangiogenních faktorů, produkují placentární růstový faktor (placenta growth factor; PIGF) a IFN- $\gamma$ , iniciují tak lokální formování spirálních tepen (Ashkar et al., 2000; Tayade et al., 2007). Snižená koncentrace PIGF je spojena s preeklampsií (Tayade et al., 2007).

uNK sice obsahují vysoké množství perforinu, ale mají nízkou cytotoxickou aktivitu. Progesteron skrze PIBF (progesterone induced blocking factor) během lidského těhotenství inhibuje cytotoxickou aktivitu NK buněk v krvi i v decidui blokováním degranulace a pomáhá tak vytvořit toleranci vůči semialogennímu plodu (Faust et al., 1999; Laskarin et al., 2002). Objevují se ale i studie, tvrdící že vliv progesteronu na proliferaci, cytotoxickou aktivitu a cytokinovou sekreci lidských uNK buněk není významný (Kitaya et al., 2003; Kurashige et al., 1986).

Je zajímavé, že i přes zaznamenané působení progesteronu, uNK neexprimují PR receptory (King et al., 1996). NK buňky periferní krve exprimují obě klasické izoformy PR-B i PR-A a jsou náchylné na progesteronem vyvolanou apoptózu, zatímco CD56<sup>bright</sup>CD16<sup>-</sup>KIR<sup>-</sup> NK buňky periferní krve, které jsou považovány za prekursor uNK, již PR neexprimují (Arruvito et al., 2008). Imunohistologie ukázala, že okolo myších uNK jsou soustředěny stromální deciduální buňky, které receptory pro progesteron mají, a tato kolokalizace se vyskytuje i ve stěnách spirálních arterií. Tato data naznačují, že účinky ovariálních hormonů na uNK jsou zprostředkovány nepřímo pomocí parakrinních signálů stromálních buněk nesoucích receptory, ale i přímé negenomové působení progesteronu je třeba brát v potaz (Croy et al., 2006). Dalším možným mechanismem je působení progesteronu skrze glukokortikoidní receptor (GR), který uNK exprimují. Tato cesta byla prokázána u myši (Guo et al., 2012).

U lidských uNK se předpokládala kolokalizace s nezralými stromálními dendritickými buňkami DC-SIGN<sup>+</sup> (Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin) (Kämmerer et al., 2003). DC-SIGN<sup>+</sup> dendritické buňky produkují pod vlivem progesteronu IL-15 (Lucas et al., 2007), růstový faktor nezbytný pro diferenciaci uNK i ostatních NK buněk (Ashkar et al., 2003). Přestože exprese IL-15 je regulována progesteronem (Dunn et al., 2009), juxtakrinní signalizace IL-15 vyžaduje kontakt buňka-buňka (Lucas et al., 2007) a zdá se, že uNK pro svou diferenciaci kontakt s PR<sup>+</sup> endometriálními buňkami nevyžadují (Oh a Croy, 2008). Oh a Croy navrhuje přehodnotit pohled na úlohu progesteronu při diferenciaci uNK. Nábor lidských uNK z periferní krve do dělohy se zdá být podporován stoupající hladinou E2 a LH (luteinizační hormon) a naopak omezován zvyšující se hladinou progesteronu (van den Heuvel et al., 2005).

Původ a expanze uNK zůstává předmětem diskusí. Mohou migrovat z periferie a diferencovat z lymfoidních progenitorů NK buněk pod kontrolou různých faktorů včetně steroidních hormonů (Borzychowski et al., 2003) a/nebo být nabírány z periferních NK buněk do dělohy (Kuang et al., 2010) či se rozšířit na místě po ustavení těhotenství (Inoue et al., 1996). Qu a spol. ukázali na progesteronu závislou expresi osteopontinu v lidských deciduálních buňkách a uNK a navrhli roli osteopontinu při akumulaci uNK v děložní tkáni (Qu et al., 2008).

### **5.3 Vliv progesteronu na žírné buňky (mastocyty)**

Mastocyty jsou známy svou úlohou v alergických reakcích, při kterých po navázání imunoglobulinu E vylitím mediátorů indukují zánětlivou odpověď. Jejich základní funkcí je obrana proti parazitárním infekcím a jsou také klíčovými regulátory adaptivní imunitní odpovědi.

Děložní mastocyty (uMCs) mají unikátní fenotyp a velký význam pro úspěšné těhotenství, jejich hladina se v těhotenství rapidně zvyšuje. V nepřítomnosti uMCs (u MC-deficientního myšího modelu) je implantace vážně narušena, remodelace spirální arterie je nedostatečná a vytváření placenty není optimální, což způsobuje růstové retardace plodu a ohrožuje jeho přežití. Své funkce uMCs realizují prostřednictvím galektinu-1, proteáz, růstového faktoru TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ) a růstového faktoru pojivové tkáně (connective tissue growth factor; CtGF) (Woidacki et al., 2013).

Během menstruačního cyklu zůstává celkový počet uMCs stejný, ale mění se jejich vlastnosti a aktivita. Po menopauze jejich množství klesá. uMCs hrají důležitou roli při obnově děložní tkáně v průběhu cyklu, většina jich je v těsné blízkosti hladkých svalových buněk (Mori et al., 1997). Během estrálního cyklu myši zůstává množství uMCs také stejné, hustota uMCs a koncentrace histaminu je vyšší v diestru, ale úměrně se zmenšením dělohy. Množství uMCs a koncentrace histaminu výrazně stoupá v těhotenství a po podání progesteronu (Padilla et al., 1990). Progesteron a estradiol přivádějí mastocyty z periferie do různých tkání a aktivují je, spouští jejich maturaci a degranulaci (Jensen et al., 2010). Výrazně vyšší počet mastocytů je ve vaječnicích během estru a diestru krys (Batth a Parshad, 2000). Mechanismus, jakým progesteron mastocyty přivádí, zůstává nejasný. Může měnit expresi jejich chemokinových receptorů, zastoupení chemokinů se vlivem progesteronu v průběhu cyklu mění a některé působí jako atraktanty mastocytů (Jensen et al., 2010).

U imunologicky stimulovaných uMCs nebo uMCs ošetřených substancí P progesteron naopak inhibuje sekreci histaminu. Tento mechanismus může vysvětlit snížení symptomů určitých zánětlivých onemocnění v průběhu těhotenství (Vasiadi et al., 2006). Progesteron u děložních mastocytů také inhibuje reaktivitu iNOS a produkci NO (Huang et al., 1995). MCs mnoha druhů exprimují PR receptory, dá se proto předpokládat, že jsou progesteronem ovlivňovány přímo (Jensen et al., 2010).

#### **5.4 Vliv progesteronu na dendritické buňky**

Jako profesionální antigen-prezentující buňky jsou dendritické buňky (DCs) mezistupněm mezi specifickou a nespecifickou imunitou. Podle stupně aktivace DCs produkují proti- nebo pro-zánětlivé cytokiny. Během fyziologického těhotenství je většina lidských a myších uterinních DCs (uDCs) nezralých (tolerogenních) a produkují hlavně IL-10, což přispívá k místnímu pro plod přátelskému prostředí (Blois et al., 2004). Spontánní potrat u lidí i myši je asociován se zvýšeným počtem maturovaných DCs produkujících IL-12 (Askelund et al., 2004; Blois et al., 2005). Význam uDCs pro správnou decidualizaci a implantaci embrya je klíčový, nedostatek uDCs má za následek poruchu implantace a vede k resorpci embrya u myši. Nehledě na roli v imunologické toleranci, uDCs řídí receptivitu dělohy regulací tkáňové přestavby (decidualizace) a angiogeneze, pravděpodobně poskytováním sFlt1 (soluble fms-like tyrosine kinase-1) a TGF- $\beta$ 1, faktorů důležitých pro koordinované zrání cév (Plaks et al., 2008).

DCs jsou velmi náchylné na stimulaci těhotenskými hormony, exprimují receptory pro progesteron, E2, hCG a LH (Butts et al., 2007; Kovats, 2012; Schumacher et al., 2013). DCs odvozené z kmenových buněk kostní dřeně (bone-marrow derived DCs; BMDCs) nebo monocytů, DCs ze sleziny či decidui reagují na hormonální stimulaci odlišně. To může poskytovat vysvětlení, jak endokrinní systém podporuje těhotenský imunitní systém v toleranci semi-alogenního plodu a zároveň je zachována obrana vůči patogenům. Tyto buňky jsou pleiotropní a mají mechanismy pro odlišné odpovědi v závislosti na situaci.

Progesteron u zralých aktivovaných BMDCs potlačuje expresi kostimulační molekuly CD80, molekuly komplexu MHC II (major histocompatibility complex II) a snižuje produkci prozánětlivých cytokinů TNF- $\alpha$  a IL-1. Získávají tak fenotyp vhodný pro těhotenství. Progesteron inhibuje DC-stimulovanou proliferaci T lymfocytů. Tyto účinky jsou primárně zprostředkovány nPR, lze jim zabránit pomocí PR antagonisty RU486. U nezralých DCs nemá progesteron žádný vliv na jejich kapacitu pro přijetí antigenu (Butts et al., 2007; Liang et al., 2006; Xu et al., 2011).

Stimulace těhotenskými hormony způsobuje významné zvýšení produkce protizánětlivého cytokinu IL-10 lidskými DCs (Huck et al., 2005; Kyurkchiev et al., 2007; Uemura et al., 2008). Pravděpodobně samotný progesteron zvyšuje produkci IL-10 aktivovanými potkaními a myšími BMDCs (Liang et al., 2006; Wan et al., 2008; Xu et al., 2011), ovšem existují i studie, tvrdící že progesteron nemá na produkci IL-10 žádný vliv (Butts et al., 2007).

V souladu s hormonálně zprostředkovanou indukcí tolerogenního fenotypu u aktivovaných BMDCs je snížena jejich kapacita pro aktivaci T lymfocytů. DCs tak udržují těhotenství prostřednictvím potlačení aloreaktivity T lymfocytů. (Butts et al., 2007; Wan et al., 2008; Xu et al., 2011). Výsledky získané po přidání progesteronu, E2 a hCG k DCs odvozeným z monocytů (monocyte-derived DCs - moDCs) z lidské periferní krve, jsou odlišné od výsledků získaných po hormonální stimulaci BMDCs. Dvě studie ukazují, že kombinace progesteronu, E2 a hCG nemá vliv na expresi markerů zralosti moDCs nebo jejich kapacitu pro stimulaci T lymfocytů (Huck et al., 2005; Uemura et al., 2008).

Působení těhotenských hormonů (konkrétně 17 $\beta$ -estradiol) také indukuje diferenciaci T lymfocytů na Th2 (T helper cells) (Uemura et al., 2008), fenotyp pro těhotenství velmi příznivý. Th1/Th2 rovnováha je regulována hlavně dvěma odlišnými podskupinami DCs; CD205+ DCs které vytváří Th1 polarizaci, a 33D1+ DCs navozující Th2 dominanci. Progesteron ovlivňuje poměr mezi těmito dvěma skupinami, podporuje dominanci 33D1+ DCs. Během těhotenství je v závislosti na množství progesteronu (nehledě na přítomnost estrogenu) poměr CD205+ DCs ku 33D1+ DCs postupně snižován a *in vivo* opět rychle zvýšen v období porodu. Nedostatek 33D1+ DCs u myši způsobuje ztrátu plodu pravděpodobně zprostředkovanou Th1 upregulací a přechodnou sekrecí IL-12, které se dá zabránit aplikací progesteronu (Negishi et al., 2012).

## **5.5 Vliv progesteronu na B lymfocyty**

B lymfocyty jsou částí adaptivního imunitního systému a nejznámější jsou produkcí protilátek. Účinně prezentují antigeny a modulují funkce T lymfocytů a DCs produkcí cytokinů. Jednotlivé podskupiny B lymfocytů různě ovlivňují těhotenství.

B lymfocyty můžeme rozdělit do 2 hlavních populací: B1 a B2 B lymfocyty, lišící se vývojovým původem, expresí povrchových markerů a funkcí. B1 B lymfocyty jsou dále rozděleny na B1a a B1b B lymfocyty na základě exprese povrchového markeru CD5 (Kantor et al., 1992). B1a B lymfocyty produkují polyreaktivní přirozené protilátky, které indukují autoreaktivitu, podílí se na vzniku

autoimunitních onemocnění (Duan a Morel, 2006) a mohou ohrozit těhotenství. Počet B1 a B lymfocytů se výrazně snižuje ve třetím trimestru fyziologického těhotenství, zůstává zvýšen u pacientek s preeklampií (Jensen et al., 2012).

Na rozdíl od škodlivých účinků přirozených protilátek, asymetrické protilátky (asymmetric antibodies; AABs) díky svým strukturálním anomáliím zvyšují úspěch těhotenství potlačováním aloreaktivních buněčných odpovědí (Margni et al., 1976). Během těhotenství hladina AABs stoupá a jejich nedostatek je spojen s těhotenskými neúspěchy u lidí (Malan Borel et al., 1991; Zenclussen et al., 2001). Sekrece AABs je alespoň částečně hormonálně regulována, přestože B lymfocyty neexprimují nPR (King et al., 1996). Progesteron vyvolává sekreci AAB (Canellada et al., 2002) prostřednictvím PIBF (Kelemen et al., 1996). Kromě vlivu na tvorbu a sekreci protilátek těhotenské hormony také regulují vývoj B lymfocytů a produkci cytokinů. Vlivem progesteronu je v endometriu tvořen glykodelin A, ten inhibuje proliferaci B lymfocytů, ale nevyvolává jejich apoptózu (Alok a Karande, 2009).

## 5.6 Vliv progesteronu na T lymfocyty

T lymfocyty jsou podstatou adaptivní buněčné imunity, regulují protilátkové i buněčně zprostředkované odpovědi imunitního systému. Na základě exprese CD markerů rozlišujeme Th (helper T cells) lymfocyty exprimující CD4, Tc (cytotoxic T cells) exprimující CD8 a další. T lymfocyty realizují svůj vliv pomocí přímých kontaktů buňka-buňka nebo nepřímo sekrecí cytokinů definujících prostředí jako prozánětlivé či protizánětlivé.

Regulaci cytokinové sekrece a některé další vlivy progesteronu zprostředkovávají klasické nPR receptory exprimované Th i T regulačními lymfocyty (Hughes et al., 2013; Mao et al., 2010). Antagonista progesteronu RU486 (mifepriston) vážící se na nPR tyto vlivy blokuje (Mao et al., 2010; Raghupathy et al., 2005). Pro T lymfocyty je ovšem zásadní hlavně negenomové působení progesteronu. T lymfocyty exprimují membránové receptory mPRs (Dosiou et al., 2008) a pravděpodobně jejich prostřednictvím progesteron potlačuje fytohemaglutininem (PHA) spuštěnou aktivaci T lymfocytů. Progesteron brání aktivaci T lymfocytů zvyšováním hladiny intracelulárního  $Ca^{2+}$  a snižováním intracelulárního pH. Dokáže také potlačit PHA spuštěnou proliferaci T lymfocytů. Tyto schopnosti má i progesteron vázaný na velké molekuly, které mu brání v průchodu do buňky (Chien et al., 2006). Mediátor progesteronu glycodelin A spouští apoptózu efektorových T lymfocytů aktivací vnitřní mitochondriální dráhy závislé na kaspázách (Alok a Karande, 2009).

### 5.6.1 Th lymfocyty a produkce cytokinů

Prozánětlivý Th1 profil převažuje v raných a pozdních fázích těhotenství, v době implantace blastocysty resp. iniciace porodu. V průběhu fyziologického těhotenství je dominantní protizánětlivá Th2 imunitní odpověď, zajišťující toleranci cizích fetálních antigenů regulací lokálního cytokinového prostředí (Zhang et al., 2004). Na změně **Th1/Th2** rovnováhy se podílí progesteron, posiluje Th2 dominanci a potlačuje Th1 odpověď na fetomaternálním rozhraní. Nadprodukce Th1 cytokinů vede k potratu,

v časném těhotenství ale Th1 profil napomáhá remodelaci cév. Pro úspěšné těhotenství je tedy důležité odpovídající vyvážení obou systémů (Malíčková et al., 2014).

Progesteron přidaný k vyvíjejícím se Th lymfocytům v koncentraci odpovídající těhotenství přímo suprimuje vývoj Th1 lymfocytů a podporuje diferenciaci Th2 lymfocytů. Aktivovaná MAP kináza má na vývoj Th lymfocytů podobný efekt, aktivace MAPK je pravděpodobně také součástí mechanismu vlivu progesteronu na Th lymfocyty (Miyaura a Iwata, 2002).

Progesteron způsobuje také převahu cytokinů, které vedou k diferenciaci lymfocytů do Th2 subpopulace. Indukuje produkci protizánětlivých cytokinů IL-4, IL-10, IL-6 a inhibuje sekreci prozánětlivých, jako jsou TNF- $\alpha$ , IL-12 a IFN- $\gamma$  (Kuklina a Shirshov, 2005; Raghupathy et al., 2005). Cytokiny IL-4 a IL-6 podněcují buňky trofoblastu k produkci hCG, který brání apoptóze žlutého tělíska a tím nepřímo stimuluje syntézu progesteronu (Saito, 2000). Vzniká tak vzájemná závislost a soulad mezi produkcí hormonů a funkčním stavem imunity.

**Th17 lymfocyty** jsou pojmenovány podle své hlavní charakteristiky – sekrece prozánětlivého IL-17. IL-17 působí na mnoho dalších buněk, včetně epiteliálních, a spouští sekreci dalších prozánětlivých cytokinů. Na základě přibývajících informací o významu Th17 a T regulačních lymfocytů v savčí reprodukci bylo Th1/Th2 paradigma rozšířeno na Th1/Th2/Th17/Treg paradigma (Saito et al., 2010).

Množství Th17 v periferní krvi je velmi nízké a dále klesá během těhotenství. Poměr T regulačních lymfocytů (Treg) vůči Th17 stoupá ve 3. trimestru fyziologického těhotenství, ale ne u žen s preeklamsií. Nepřímou úměru mezi množstvím Th17 a Treg pravděpodobně způsobuje IL-6, který blokuje maturaci Treg a indukuje diferenciaci Th17 (Santner-Nanan et al., 2009).

V děloze je situace překvapivě opačná. Množství uterinních Th17 je vyšší než množství Th17 cirkulujících v periferní krvi. To může být vysvětlováno obrannou úlohou Th17 v boji proti extracelulárním bakteriím a houbovým patogenům (Saito et al., 2011). IL-17 vyvolává v buňkách trofoblastu zvýšenou sekreci progesteronu, který napomáhá jeho invazi (Pongcharoen a Supalap, 2009). Úspěšná implantace embrya se tak do jisté míry podobá zánětlivému procesu (Malíčková et al., 2014).

Jedním z nejvýznamnějších cytokinů v savčí reprodukci je **leukemický inhibiční faktor (LIF)**. Exprese LIF v děloze je nezbytná pro implantaci blastocysty u myši i lidí a jeho množství je jedním z markerů plodnosti. LIF je exprimován v glandulárním a lumenálním epitelu (nikoli ve stromatu) endometria v době odpovídající implantaci (Cullinan et al., 1996). LIF je důležitý i během těhotenství. V časném těhotenství je LIF jedním z převládajících cytokinů v placentě. Přechodná inhibice působení LIF zablokováním jeho receptorů v placentě během určitých fází vývoje placenty vede k její abnormální vaskulární morfologii a snižuje životaschopnost těhotenství (Winship et al., 2015a). LIF je také důležitý pro správnou invazi trofoblastu a remodelaci spirálních tepen (Winship et al., 2015b). Progesteron stimuluje expresi LIF, který brání zánětlivým procesům vyvolaným lipopolysacharidem. Lipopolysacharid podaný myším zvyšuje hladiny NO a způsobuje resorpci embrya. Podáním progesteronu lze těmto účinkům lipopolysacharidu předejít (Aisemberg et al., 2013).



Nerovnováha v cytokinovém profilu je spojena s těhotenskými komplikacemi. Těhotné ženy s vysokým rizikem potratu mají oproti zdravým kontrolám nižší hladinu PIBF a protizánětlivých cytokinů a naopak zvýšenou hladinu prozánětlivých cytokinů v moči i krevní plazmě. Určení hladiny PIBF v časném těhotenství může být použito pro diagnostiku bížícího se potratu (Hudić a Fatusić, 2009). Cytokinová nerovnováha s predominancí Th1 profilu se vyskytuje také u žen s preeklamsií (Dong et al., 2005). Podání dydrogesteronu, který stimuluje produkci PIBF a Th2 cytokinů, je úspěšné při léčbě idiopatických opakovaných potratů (Raghupathy et al., 2005).

Deciduální T lymfocyty žen trpících nevysvětlenými opakovanými potraty vykazují sníženou produkci CSF-1, LIF a dalších cytokinů ochraňujících těhotenství. Hladiny LIF jsou deregulované u většiny neplodných žen a mutace v genu pro LIF jsou u nich signifikantně častější. Neplodné ženy s mutací mohou být úspěšně léčeny pomocí technik asistované reprodukce, a to pravděpodobně díky silné hormonální stimulaci druhé nemutované alely genu pro LIF (Králičková et al., 2007).

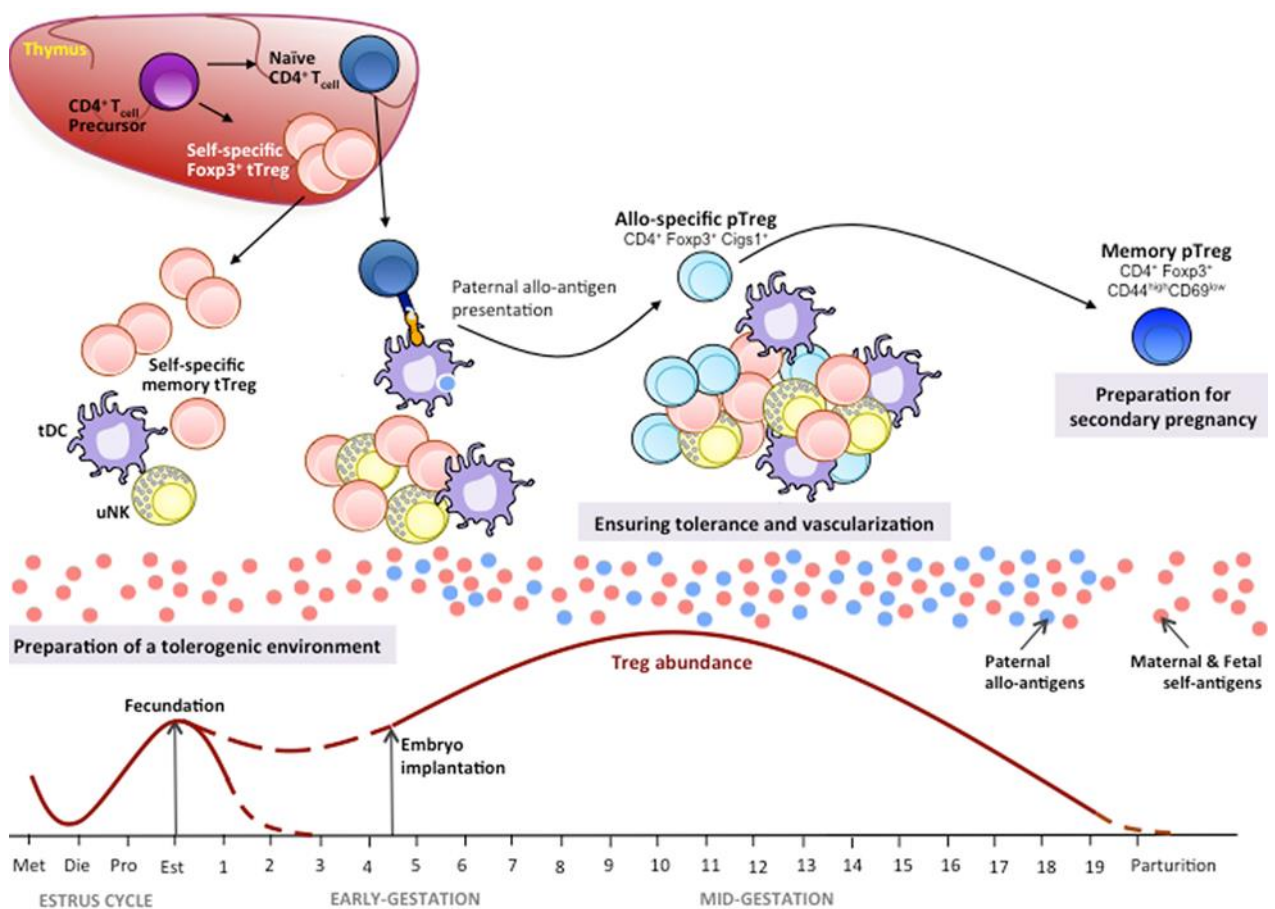
### **5.6.2 T regulační lymfocyty**

Antigeně stimulované T regulační (Treg) lymfocyty potlačují proliferaci a aktivitu efektorových T lymfocytů a antigen prezentujících buněk. Ve fyziologické graviditě dochází k rapidnímu nárůstu populace Treg lymfocytů cirkulujících v periferní krvi (Somerset et al., 2004) a rezidentních v decidui (Heikkinen et al., 2004). Treg lymfocyty modulují maternální imunitu systém a hrají významnou roli při ustanovení fetoplacentární tolerance, která je základem úspěšného těhotenství (Somerset et al., 2004).

Už během ovulace dochází vlivem estrogenů k nárůstu populace Treg lymfocytů, která po ovulaci dále vzrůstá díky progesteronu produkovanému žlutým tělískem (Arruvito et al., 2007). Přítomnost Treg lymfocytů v děloze ještě před početím je velmi důležitá. Snížená exprese jejich hlavního transkripčního faktoru Foxp3 (forkhead box P3) v endometriu je spojena s idiopatickou neplodností žen (Jasper et al., 2006) a nedostatek Treg buněk v myších modelech brání implantaci embrya (Teles et al., 2013). Po koitu nastává díky antigenům a cytokinům v seminální tekutině další expanze a akumulace populace Treg lymfocytů v lymfatických uzlinách uteru. Seminální tekutina tak připravuje samičí reprodukční trakt na implantaci embrya a zajišťuje specifickou toleranci vůči paternálním aloantigenům. Pokud nedojde k početí, opakované vystavení samičího reprodukčního traktu seminální tekutině vede k žádoucím zvyšování počtu Treg lymfocytů (Guerin et al., 2011; Robertson et al., 2009). Po implantaci pak embryo uvolňuje aloantigeny a cytokiny čímž stimuluje Treg lymfocyty k další intenzivní proliferaci až do vrcholu ve druhém trimestru těhotenství, poté jejich populace klesá (Robertson et al., 2009; Somerset et al., 2004). Výrazným snížením hladiny Treg lymfocytů je doprovázen předčasný i termínový porod (Xiong et al., 2010) a nižší hladina Treg lymfocytů v periferní krvi značí vyšší riziko potratu (Winger a Reed 2011). Pro včasné rozeznání rizika potratu či předčasného porodu je ideální společně s délkou děložního hrdla sledovat množství Treg lymfocytů (Koucký et al., 2014).

Úlohu Treg lymfocytů při navozování tolerance vůči paternálním antigenům potvrzuje i fakt, že jejich množství stoupá výrazně více v případě alogenních gravidit než u gravidit syngenních (Darrasse-Jèze et al., 2006). Nedostatek Treg lymfocytů u myších modelů vede k rejekci samčích plodů, a to nejen alogenních, ale i syngenních (Kahn a Baltimore, 2010). Tato zajímavá situace zatím postrádá vysvětlení.

Vznik antigenní specifity Treg lymfocytů chránících plod zůstává nejasný. Z progenitorů T lymfocytů, které rozeznávají antigeny tělu vlastní, vznikají v brzlíku tTreg (thymic Treg; jinak také nTreg, natural Treg) lymfocyty exprimující FoxP3. V periferních tkáních vznikají pTreg (peripheral Treg; jinak také iTreg, induced Treg), po kontaktu s antigeny specifickými pro příslušné tkáně a po stimulaci kyselinou retinovou a TGF- $\beta$  (Coombes et al., 2007; Fu et al., 2004). U myších modelů bez pTreg lymfocytů dochází ve zvýšené míře k potratům. Odstranění tTreg lymfocytů četnost potratů už dále nezvyšuje, proto se zdá, že pro úspěšné těhotenství jsou nutné hlavně pTreg lymfocyty (Samstein et al., 2012). Během ovulace se množství Treg lymfocytů zvyšuje a v případě těhotenství dále stoupá po implantaci embrya (viz obr. 9). V děloze dochází ke spolupráci s uNK a uDC buňkami (zde tDC, tolerogenic dendritic cells) a dohromady tyto buňky vytváří vhodné tolerogenní prostředí a zajišťují vznik spirálních arterií (Terme et al., 2008). Prezentací aloantigenů uDCs stimulují přeměnu naivních T lymfocytů v pTregs (Zheng et al., 2010).



Obr. 9: Treg lymfocyty v myším těhotenství. Vysvětleno v textu. Převzato z: Ruocco et al., 2014

Vzájemné vztahy uNK, uDC a Treg lymfocytů vyžadují další výzkum. Vznikají také paměťové pTreg lymfocyty, které indukují toleranci vůči stejným paternálním aloantigenům v případě dalšího těhotenství (Rowe et al., 2012).

Progesteron reguluje více aspektů života Treg lymfocytů, včetně diferenciaci, proliferaci, migraci a supresivní funkce. V polovině těhotenství způsobuje progesteron výrazný nárůst populace Treg lymfocytů v děloze i v periferní krvi, vyvolává přeměnu CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> T lymfocytů v CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg lymfocyty a stimuluje v nich expresi FoxP3 a IL-10. Tyto účinky, zjištěné *in vivo* u myši, jsou pravděpodobně zprostředkovány nPR receptory, protože přidání RU 486 je zablokuje a vyvolá potrat (Mao et al., 2010). Během těhotenství dochází kromě obecného nárůstu Treg lymfocytů také ke zvýšení počtu Treg lymfocytů exprimujících mPR $\alpha$ . V období porodu se množství Treg lymfocytů snižuje a zároveň klesá i míra exprese mPR $\alpha$  na jejich povrchu. Progesteron tedy realizuje protizánětlivé účinky Treg lymfocytů alespoň částečně prostřednictvím mPR $\alpha$  a snížení jejich exprese může být jeden z mechanismů spouštění porodu u lidí (Areia et al., 2016).

Objevují se ale i studie tvrdící, že progesteron nemá žádný významný vliv na expresi FoxP3 (Shirshv et al., 2011), nebo dokonce že zvýšení hladiny Treg lymfocytů není řízeno těhotenskými hormony (Mjösberg et al., 2010; Thuere et al., 2007; Zhao et al., 2007). Tyto rozpory mohou být způsobeny odlišnými markery pro rozeznání Treg lymfocytů, odlišnými časy analýzy, použitými modelovými organismy či použitím umělých hormonů s odlišnou afinitou k receptorům progesteronu. Proto je nutný další výzkum hormonálního vlivu na množství a funkci Treg lymfocytů.

Nedostatek Treg lymfocytů je pravděpodobně důvodem častých sterilit u žen s endometriózou. Endometrióza je gynekologická porucha spojená s poruchami plodnosti. Po vzniku endometriálních lézí dochází k redukcii počtu Treg lymfocytů v periferní krvi i v endometriu (Jasper et al., 2006).

## **6 Imunitní onemocnění spojená s těhotenstvím**

Během těhotenství snižená aktivita NK buněk, zánětlivých makrofágů, Th1 lymfocytů a produkce zánětlivých cytokinů, v kombinaci s vyšší aktivitou T regulačních lymfocytů a produkcí protizánětlivých cytokinů, ovlivňuje patogenezi onemocnění. V průběhu těhotenství se závažnost onemocnění vyvolaných zánětlivými odpověďmi (např. roztroušená skleróza) snižuje a závažnost onemocnění, které jsou mírněny zánětlivými odpověďmi (např., chřipky a malárie), se zvyšuje. U některých infekčních chorob zvýšené zánětlivé reakce, které jsou nutné pro kontrolu a odstranění patogenu, mají negativní důsledky pro těhotenství. Obousměrné interakce mezi hormony a imunitním systémem se podílejí na výsledku těhotenství a ženské citlivost vůči onemocněním (Robinson a Klein, 2012).

## Závěr

Tato práce shrnuje současné poznatky o vlivu progesteronu na imunitní systém těhotných žen (či samic modelových savců) a podává přehled známých mechanismů jeho působení. V poslední době se znalosti o působení progesteronu rozšiřují, avšak vyvstává i mnoho otázek a přibývá množství jevů, které vyžadují vysvětlení a další ověřování.

Ze studia odborné literatury vyplývá, že jakékoli obecné závěry v oblasti endokrinně-imunologických interakcí je třeba činit s velkou opatrností. Společně s vývojem poznání byly mnohé původní hypotézy přehodnoceny či vyvráceny, některé naopak znovu potvrzeny. Při vypracovávání této práce jsem si všimla několika úskalí, které výzkum této oblasti obnáší. Ne vždy lze spoléhat na myši či jiné modely, některé procesy v modelových organismech probíhají odlišně. Buňky v různých tkáních a podmínkách mají jiné vlastnosti, během reprodukčního cyklu a těhotenství probíhají přesuny mezi dělohou a periferií i v rámci dělohy a dochází ke změně chování buněk. Síť vzájemných interakcí *in vivo* je velice komplexní, výsledky získané *in vitro* se *in vivo* nemusí potvrdit. Protichůdné výsledky mohou být způsobeny také odlišnými markery, například pro určení Treg lymfocytů, a odlišnými časovými okamžiky analýzy. V neposlední řadě mohou být různorodé výsledky studií dány použitím odlišných látek, používá se více typů uměle syntetizovaného progesteronu, které mají mírně odlišnou afinitu k progesteronovým receptorům.

Aplikace progesteronu už se v klinické praxi s úspěchem využívá, například u žen s opakovanými potraty, rizikem předčasného porodu či při technikách asistované reprodukce. Progesteron však v sobě skrývá ještě velký terapeutický potenciál. Hlubší porozumění mechanismům jeho působení přispěje k vývoji účinnější a pohodlnější léčby i prevence mnoha patologií těhotenství (potrat, preeklampsie, předčasný porod, IUGR, HELLP syndrom), povede ke zvýšení úspěšnosti asistované reprodukce a léčby neplodnosti.

Ve své diplomové práci bych se chtěla věnovat vlivu progesteronu na T regulační lymfocyty těhotných žen. T regulační lymfocyty jsou klíčové pro zajištění tolerance semialogenního plodu, podílejí se však také na nežádoucí toleranci rakovinných buněk. T regulační lymfocyty se stávají atraktivním cílem výzkumu, neboť slibují významné využití v reprodukční i transplantační imunologii, ale také při léčbě autoimunitních a nádorových onemocnění.

## Bibliografie

\* Review jsou označena hvězdičkou.

Aisemberg, J., Vercelli, C.A., Bariani, M. V, Billi, S.C., Wolfson, M.L., a Franchi, A.M. (2013). Progesterone is essential for protecting against LPS-induced pregnancy loss. LIF as a potential mediator of the anti-inflammatory effect of progesterone. *PLoS One* 8, e56161.

Alok, A., a Karande, A.A. (2009). The role of glycodelin as an immune-modulating agent at the fetomaternal interface. *J. Reprod. Immunol.* 83, 124–127.

Areia, A., Vale-Pereira, S., Alves, V., Rodrigues-Santos, P., Santos-Rosa, M., Moura, P., a Mota-Pinto, A. (2016). Can membrane progesterone receptor  $\alpha$  on T regulatory cells explain the ensuing human labour? *J. Reprod. Immunol.* 113, 22–26.

Arruvito, L., Sanz, M., Banham, A.H., a Fainboim, L. (2007). Expansion of CD4+CD25+and FOXP3+ Regulatory T Cells during the Follicular Phase of the Menstrual Cycle: Implications for Human Reproduction. *J. Immunol.* 178, 2572–2578.

Arruvito, L., Giulianelli, S., Flores, A.C., Paladino, N., Barboza, M., Lanari, C., a Fainboim, L. (2008). NK Cells Expressing a Progesterone Receptor Are Susceptible to Progesterone-Induced Apoptosis. *J. Immunol.* 180, 5746–5753.

Ashkar, A.A., Di Santo, J.P., a Croy, B.A. (2000). Interferon  $\gamma$  Contributes to Initiation of Uterine Vascular Modification, Decidual Integrity, and Uterine Natural Killer Cell Maturation during Normal Murine Pregnancy. *J. Exp. Med.* 192, 259–270.

Ashkar, A.A., Black, G.P., Wei, Q., He, H., Liang, L., Head, J.R., a Croy, B.A. (2003). Assessment of Requirements for IL-15 and IFN Regulatory Factors in Uterine NK Cell Differentiation and Function During Pregnancy. *J. Immunol.* 171, 2937–2944.

Ashley, R.L., Clay, C.M., Farmerie, T.A., Niswender, G.D., a Nett, T.M. (2006). Cloning and characterization of an ovine intracellular seven transmembrane receptor for progesterone that mediates calcium mobilization. *Endocrinology* 147, 4151–4159.

Askelund, K., Liddell, H.S., Zanderigo, A.M., Fernando, N.S., Khong, T.Y., Stone, P.R., a Chamley, L.W. (2004). CD83(+) dendritic cells in the decidua of women with recurrent miscarriage and normal pregnancy. *Placenta* 25, 140–145.

Ballaré, C., Vallejo, G., Vicent, G.P., Saragüeta, P., a Beato, M. (2006). Progesterone signaling in breast and endometrium. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 102, 2–10.

Bar, J., Lahav, J., Hod, M., Ben-Rafael, Z., Weinberger, I., a Brosens, J. (2000). Regulation of platelet aggregation and adenosine triphosphate release in vitro by 17beta-estradiol and medroxyprogesterone acetate in postmenopausal women. *Thromb. Haemost.* 84, 695–700.

Batth, B.K., a Parshad, R.K. (2000). Mast cell dynamics in the house rat (*Rattus rattus*) ovary during estrus cycle, pregnancy and lactation. *Eur. J. Morphol.* 38, 17–23.

Beausoleil, S.A., Jedrychowski, M., Schwartz, D., Elias, J.E., Villén, J., Li, J., Cohn, M.A., Cantley, L.C., a Gygi, S.P. (2004). Large-scale characterization of HeLa cell nuclear phosphoproteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101, 12130–12135.

\*Belelli, D., a Lambert, J.J. (2005). Neurosteroids: endogenous regulators of the GABA(A) receptor. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 565–575.

- Blackmore, P.F., Beebe, S.J., Danforth, D.R., and Alexander, N. (1990). Progesterone and 17 alpha-hydroxyprogesterone. Novel stimulators of calcium influx in human sperm. *J. Biol. Chem.* *265*, 1376–1380.
- Blois, S., Tometten, M., Kandil, J., Hagen, E., Klapp, B.F., Margni, R.A., and Arck, P.C. (2005). Intercellular adhesion molecule-1/LFA-1 cross talk is a proximate mediator capable of disrupting immune integration and tolerance mechanism at the fetomaternal interface in murine pregnancies. *J. Immunol.* *174*, 1820–1829.
- Blois, S.M., Alba Soto, C.D., Tometten, M., Klapp, B.F., Margni, R.A., and Arck, P.C. (2004). Lineage, maturity, and phenotype of uterine murine dendritic cells throughout gestation indicate a protective role in maintaining pregnancy. *Biol. Reprod.* *70*, 1018–1023.
- Boonyaratanakornkit, V., McGowan, E., Sherman, L., Mancini, M.A., Cheskis, B.J., and Edwards, D.P. (2007). The role of extranuclear signaling actions of progesterone receptor in mediating progesterone regulation of gene expression and the cell cycle. *Mol. Endocrinol.* *21*, 359–375.
- Borzychowski, A.M., Chantakru, S., Minhas, K., Paffaro, V.A., Yamada, A.T., He, H., Korach, K.S., and Croy, B.A. (2003). Functional analysis of murine uterine natural killer cells genetically devoid of oestrogen receptors. *Placenta* *24*, 403–411.
- Brannstrom, M., Pascoe, V., Norman, R.J., and McClure, N. (1994). Localization of leukocyte subsets in the follicle wall and in the corpus luteum throughout the human menstrual cycle. *Fertil. Steril.* *61*, 488–495.
- \*Brown, M., and Goldstein, J. (1976). Receptor-mediated control of cholesterol metabolism. *Science.* *191*, 150–154.
- Butts, C.L., Shukair, S.A., Duncan, K.M., Bowers, E., Horn, C., Belyavskaya, E., Tonelli, L., and Sternberg, E.M. (2007). Progesterone inhibits mature rat dendritic cells in a receptor-mediated fashion. *Int. Immunol.* *19*, 287–296.
- \*Cahill, M.A. (2007). Progesterone receptor membrane component 1: an integrative review. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* *105*, 16–36.
- Cai, Z., and Stocco, C. (2005). Expression and regulation of progestin membrane receptors in the rat corpus luteum. *Endocrinology* *146*, 5522–5532.
- Cai, W., Zhu, Y., Furuya, K., Li, Z., Sokabe, M., and Chen, L. (2008). Two different molecular mechanisms underlying progesterone neuroprotection against ischemic brain damage. *Neuropharmacology* *55*, 127–138.
- Canellada, A., Blois, S., Gentile, T., and Margni, R.A. (2002). In vitro modulation of protective antibody responses by estrogen, progesterone and interleukin-6. *Am. J. Reprod. Immunol.* *48*, 334–343.
- Care, A.S., Diener, K.R., Jasper, M.J., Brown, H.M., Ingman, W. V., and Robertson, S.A. (2013). Macrophages regulate corpus luteum development during embryo implantation in mice. *J. Clin. Invest.* *123*, 3472–3487.
- Cervar, M., Blaschitz, A., Dohr, G., and Desoye, G. (1999). Paracrine regulation of distinct trophoblast functions in vitro by placental macrophages. *Cell Tissue Res.* *295*, 297–305.
- Cohen, P.E., Zhu, L., and Pollard, J.W. (1997). Absence of colony stimulating factor-1 in osteopetrotic (csfmop/csfmop) mice disrupts estrous cycles and ovulation. *Biol. Reprod.* *56*, 110–118.

- \*Collier, T.L., Waterhouse, R.N., a Kassiou, M. (2007). Imaging sigma receptors: applications in drug development. *Curr. Pharm. Des.* *13*, 51–72.
- Condon, J.C., Hardy, D.B., Kovaric, K., a Mendelson, C.R. (2006). Up-regulation of the progesterone receptor (PR)-C isoform in laboring myometrium by activation of nuclear factor-kappaB may contribute to the onset of labor through inhibition of PR function. *Mol. Endocrinol.* *20*, 764–775.
- Coombes, J.L., Siddiqui, K.R.R., Arancibia-Cárcamo, C. V, Hall, J., Sun, C.-M., Belkaid, Y., a Powrie, F. (2007). A functionally specialized population of mucosal CD103+ DCs induces Foxp3+ regulatory T cells via a TGF-beta and retinoic acid-dependent mechanism. *J. Exp. Med.* *204*, 1757–1764.
- Costea, D.M., Gunn, L.K., Hargreaves, C., Howell, R.J., a Chard, T. (2000). Delayed luteo-placental shift of progesterone production in IVF pregnancy. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* *68*, 123–129.
- \*Croy, B.A., van den Heuvel, M.J., Borzychowski, A.M., a Tayade, C. (2006). Uterine natural killer cells: a specialized differentiation regulated by ovarian hormones. *Immunol. Rev.* *214*, 161–185.
- Cullinan, E.B., Abbondanzo, S.J., Anderson, P.S., Pollard, J.W., Lessey, B.A., a Stewart, C.L. (1996). Leukemia inhibitory factor (LIF) and LIF receptor expression in human endometrium suggests a potential autocrine/paracrine function in regulating embryo implantation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *93*, 3115–3120.
- Darrasse-Jèze, G., Darasse-Jèze, G., Klatzmann, D., Charlotte, F., Salomon, B.L., a Cohen, J.L. (2006). CD4+CD25+ regulatory/suppressor T cells prevent allogeneic fetus rejection in mice. *Immunol. Lett.* *102*, 106–109.
- De, M., a Wood, G.W. (1990). Influence of oestrogen and progesterone on macrophage distribution in the mouse uterus. *J. Endocrinol.* *126*, 417–424.
- Dong, M., He, J., Wang, Z., Xie, X., a Wang, H. (2005). Placental imbalance of Th1- and Th2-type cytokines in preeclampsia. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* *84*, 788–793.
- Dosiou, C., Hamilton, A.E., Pang, Y., Overgaard, M.T., Tulac, S., Dong, J., Thomas, P., a Giudice, L.C. (2008). Expression of membrane progesterone receptors on human T lymphocytes and Jurkat cells and activation of G-proteins by progesterone. *J. Endocrinol.* *196*, 67–77.
- \*Duan, B., a Morel, L. (2006). Role of B-1a cells in autoimmunity. *Autoimmun. Rev.* *5*, 403–408.
- Dunlap, K.A., a Stormshak, F. (2004). Nongenomic inhibition of oxytocin binding by progesterone in the ovine uterus. *Biol. Reprod.* *70*, 65–69.
- Dunn, C.L., Critchley, H.O.D., a Kelly, R.W. (2009). IL-15 Regulation in Human Endometrial Stromal Cells. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*
- \*Falkenstein, E., Schmieding, K., Lange, A., Meyer, C., Gerdes, D., Welsch, U., a Wehling, M. (1998). Localization of a putative progesterone membrane binding protein in porcine hepatocytes. *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*. *44*, 571–578.
- Falkenstein, E., Norman, A.W., a Wehling, M. (2009). Mannheim Classification of Nongenomically Initiated (Rapid) Steroid Action(s). *J. Clin. Endocrinol. Metab.*
- Faust, Z., Laskarin, G., Rukavina, D., a Szekeres-Bartho, J. (1999). Progesterone-induced blocking factor inhibits degranulation of natural killer cells. *Am. J. Reprod. Immunol.* *42*, 71–75.
- Fazleabas, A.T., Braundmeier, A., a Parkin, K. (2015). Endometriosis-induced changes in regulatory T

- cells - insights towards developing permanent contraception. *Contraception* 92, 116–119.
- Feder, H.H., Resko, J.A., a Goy, R.W. (1968). Progesterone levels in the arterial plasma of preovulatory and ovariectomized rats. *J. Endocrinol.* 41, 563–569.
- Ferrell, J.E. (1999). *Xenopus* oocyte maturation: new lessons from a good egg. *Bioessays* 21, 833–842.
- Fontaine-Lenoir, V., Chambraud, B., Fellous, A., David, S., Duchossoy, Y., Baulieu, E.-E., a Robel, P. (2006). Microtubule-associated protein 2 (MAP2) is a neurosteroid receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 4711–4716.
- Frye, C.A., Sumida, K., Lydon, J.P., O'Malley, B.W., a Pfaff, D.W. (2006). Mid-aged and aged wild-type and progesterin receptor knockout (PRKO) mice demonstrate rapid progesterone and 3alpha,5alpha-THP-facilitated lordosis. *Psychopharmacology (Berl)*. 185, 423–432.
- Fu, S., Zhang, N., Yopp, A.C., Chen, D., Mao, M., Chen, D., Zhang, H., Ding, Y., a Bromberg, J.S. (2004). TGF-beta induces Foxp3 + T-regulatory cells from CD4 + CD25 - precursors. *Am. J. Transplant* 4, 1614–1627.
- Gava, N., Clarke, C.L., Byth, K., Arnett-Mansfield, R.L., a deFazio, A. (2004). Expression of progesterone receptors A and B in the mouse ovary during the estrous cycle. *Endocrinology* 145, 3487–3494.
- Ghoumari, A.M., Ibanez, C., El-Etr, M., Leclerc, P., Eychenne, B., O'Malley, B.W., Baulieu, E.E., a Schumacher, M. (2003). Progesterone and its metabolites increase myelin basic protein expression in organotypic slice cultures of rat cerebellum. *J. Neurochem.* 86, 848–859.
- Grazzini, E., Guillon, G., Mouillac, B., a Zingg, H.H. (1998). Inhibition of oxytocin receptor function by direct binding of progesterone. *Nature* 392, 509–512.
- Guerin, L.R., Moldenhauer, L.M., Prins, J.R., Bromfield, J.J., Hayball, J.D., a Robertson, S.A. (2011). Seminal fluid regulates accumulation of FOXP3+ regulatory T cells in the preimplantation mouse uterus through expanding the FOXP3+ cell pool and CCL19-mediated recruitment. *Biol. Reprod.* 85, 397–408.
- Guo, W., Li, P., Zhao, G., Fan, H., Hu, Y., a Hou, Y. (2012). Glucocorticoid receptor mediates the effect of progesterone on uterine natural killer cells. *Am. J. Reprod. Immunol.* 67, 463–473.
- Halme, J., Hammond, M.G., Syrop, C.H., a Talbert, L.M. (1985). Peritoneal macrophages modulate human granulosa-luteal cell progesterone production. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 61, 912–916.
- Hanna, R., Pang, Y., Thomas, P., a Zhu, Y. (2006). Cell-surface expression, progesterin binding, and rapid nongenomic signaling of zebrafish membrane progesterin receptors alpha and beta in transfected cells. *J. Endocrinol.* 190, 247–260.
- \*Hanukoglu, I. (1992). Steroidogenic enzymes: structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 43, 779–804.
- Hatta, K., Carter, A.L., Chen, Z., Leno-Durán, E., Ruiz-Ruiz, C., Olivares, E.G., Tse, M.Y., Pang, S.C., a Croy, B.A. (2011). Expression of the vasoactive proteins AT1, AT2, and ANP by pregnancy-induced mouse uterine natural killer cells. *Reprod. Sci.* 18, 383–390.
- Hayashi, T., Maurice, T., a Su, T.-P. (2000). Ca<sup>2+</sup> Signaling via sigma 1-Receptors: Novel Regulatory Mechanism Affecting Intracellular Ca<sup>2+</sup> Concentration. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 293, 788–798.



- Heaton, J.H., Dlakic, W.M., Dlakic, M., a Gelehrter, T.D. (2001). Identification and cDNA cloning of a novel RNA-binding protein that interacts with the cyclic nucleotide-responsive sequence in the Type-1 plasminogen activator inhibitor mRNA. *J. Biol. Chem.* 276, 3341–3347.
- Heikkinen, J., Möttönen, M., Alanen, A., a Lassila, O. (2004). Phenotypic characterization of regulatory T cells in the human decidua. *Clin. Exp. Immunol.* 136, 373–378.
- Heneghan, A.F., Connaghan-Jones, K.D., Miura, M.T., a Bain, D.L. (2006). Cooperative DNA binding by the B-isoform of human progesterone receptor: thermodynamic analysis reveals strongly favorable and unfavorable contributions to assembly. *Biochemistry* 45, 3285–3296.
- \*van den Heuvel, M.J., Xie, X., Tayade, C., Peralta, C., Fang, Y., Leonard, S., Paffaro, V.A., Sheikhi, A.K., Murrant, C., a Croy, B.A. (2005). A review of trafficking and activation of uterine natural killer cells. *Am. J. Reprod. Immunol.* 54, 322–331.
- Huang, J., Roby, K.F., Pace, J.L., Russell, S.W., a Hunt, J.S. (1995). Cellular localization and hormonal regulation of inducible nitric oxide synthase in cycling mouse uterus. *J. Leukoc. Biol.* 57, 27–35.
- Huang, L., Grammatikakis, N., Yoneda, M., Banerjee, S.D., a Toole, B.P. (2000). Molecular characterization of a novel intracellular hyaluronan-binding protein. *J. Biol. Chem.* 275, 29829–29839.
- Huck, B., Steck, T., Habersack, M., Dietl, J., a Kämmerer, U. (2005). Pregnancy associated hormones modulate the cytokine production but not the phenotype of PBMC-derived human dendritic cells. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 122, 85–94.
- Hudić, I., a Fatusić, Z. (2009). Progesterone - induced blocking factor (PIBF) and Th(1)/Th(2) cytokine in women with threatened spontaneous abortion. *J. Perinat. Med.* 37, 338–342.
- Hughes, A.L., Powell, D.W., Bard, M., Eckstein, J., Barbuch, R., Link, A.J., a Espenshade, P.J. (2007). Dap1/PGRMC1 binds and regulates cytochrome P450 enzymes. *Cell Metab.* 5, 143–149.
- Hughes, G.C., Clark, E.A., a Wong, A.H. (2013). The intracellular progesterone receptor regulates CD4+ T cells and T cell-dependent antibody responses. *J. Leukoc. Biol.* 93, 369–375.
- \*Hunt, J.S., a Robertson, S.A. (1996). Uterine macrophages and environmental programming for pregnancy success. *J. Reprod. Immunol.* 32, 1–25.
- Hunt, J.S., Manning, L.S., Mitchell, D., Selanders, J.R., a Wood, G.W. (1985). Localization and characterization of macrophages in murine uterus. *J. Leukoc. Biol.* 38, 255–265.
- Cherradi, N., Rossier, M.F., Vallotton, M.B., a Capponi, A.M. (1996). Calcium stimulates intramitochondrial cholesterol transfer in bovine adrenal glomerulosa cells. *J. Biol. Chem.* 271, 25971–25975.
- Chien, E.J., Chang, C.-P., Lee, W.-F., Su, T.-H., a Wu, C.-H. (2006). Non-genomic immunosuppressive actions of progesterone inhibits PHA-induced alkalization and activation in T cells. *J. Cell. Biochem.* 99, 292–304.
- Inoue, T., Kanzaki, H., Imai, K., Narukawa, S., Katsuragawa, H., Watanabe, H., Hirano, T., a Mori, T. (1996). Progesterone stimulates the induction of human endometrial CD56+ lymphocytes in an in vitro culture system. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81, 1502–1507.
- Jackson, M.R., Nilsson, T., a Peterson, P.A. (1990). Identification of a consensus motif for retention of transmembrane proteins in the endoplasmic reticulum. *EMBO J.* 9, 3153–3162.

- Jasper, M.J., Tremellen, K.P., a Robertson, S.A. (2006). Primary unexplained infertility is associated with reduced expression of the T-regulatory cell transcription factor Foxp3 in endometrial tissue. *Mol. Hum. Reprod.* *12*, 301–308.
- Jensen, F., Woudwyk, M., Teles, A., Woidacki, K., Taran, F., Costa, S., Malfertheiner, S.F., a Zenclussen, A.C. (2010). Estradiol and progesterone regulate the migration of mast cells from the periphery to the uterus and induce their maturation and degranulation. *PLoS One* *5*, e14409.
- Jensen, F., Wallukat, G., Herse, F., Budner, O., El-Mouseleh, T., Costa, S.-D., Dechend, R., a Zenclussen, A.C. (2012). CD19+CD5+ cells as indicators of preeclampsia. *Hypertension* *59*, 861–868.
- Jung-Testas, I., Hu, Z.Y., Baulieu, E.E., a Robel, P. (1989). Neurosteroids: biosynthesis of pregnenolone and progesterone in primary cultures of rat glial cells. *Endocrinology* *125*, 2083–2091.
- Kahn, D.A., a Baltimore, D. (2010). Pregnancy induces a fetal antigen-specific maternal T regulatory cell response that contributes to tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *107*, 9299–9304.
- Kämmerer, U., Eggert, A.O., Kapp, M., McLellan, A.D., Geijtenbeek, T.B.H., Dietl, J., van Kooyk, Y., a Kämpgen, E. (2003). Unique appearance of proliferating antigen-presenting cells expressing DC-SIGN (CD209) in the decidua of early human pregnancy. *Am. J. Pathol.* *162*, 887–896.
- Kantor, A.B., Stall, A.M., Adams, S., a Herzenberg, L.A. (1992). Differential development of progenitor activity for three B-cell lineages. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *89*, 3320–3324.
- Katabuchi, H., a Ohba, T. (2008). Human chorionic villous macrophages as a fetal biological shield from maternal chorionic gonadotropin. *Dev. Growth Differ.* *50*, 299–306.
- Kato, J., Hirata, S., Nozawa, A., a Mouri, N. (1993). The ontogeny of gene expression of progesterin receptors in the female rat brain. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* *47*, 173–182.
- Kauma, S.W., S.L., A., Eierman, D., a Turner, T. (1991). Colony-Stimulating Factor-1 and c-fms Expression in Human Endometrial Tissues and Placenta during the Menstrual Cycle and Early Pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *73*, 746–751.
- Kelemen, K., Bogнар, I., Paal, M., a Szekeres-Bartho, J. (1996). A progesterone-induced protein increases the synthesis of asymmetric antibodies. *Cell. Immunol.* *167*, 129–134.
- King, A., Gardner, L., a Loke, Y.W. (1996). Evaluation of oestrogen and progesterone receptor expression in uterine mucosal lymphocytes. *Hum. Reprod.* *11*, 1079–1082.
- Kitaya, K., Yasuda, J., Nakayama, T., Fushiki, S., a Honjo, H. (2003). Effect of female sex steroids on human endometrial CD16neg CD56bright natural killer cells. *Fertil. Steril.* *79 Suppl 1*, 730–734.
- Koenig, H.L., Schumacher, M., Ferzaz, B., Thi, A.N., Ressouches, A., Guennoun, R., Jung-Testas, I., Robel, P., Akwa, Y., a Baulieu, E.E. (1995). Progesterone synthesis and myelin formation by Schwann cells. *Science* *268*, 1500–1503.
- Koensgen, D., Mustea, A., Klamann, I., Sun, P., Zafrakas, M., Lichtenegger, W., Denkert, C., Dahl, E., a Sehouli, J. (2007). Expression analysis and RNA localization of PAI-RBP1 (SERBP1) in epithelial ovarian cancer: association with tumor progression. *Gynecol. Oncol.* *107*, 266–273.
- Koopman, L.A., Kopcow, H.D., Rybalov, B., Boyson, J.E., Orange, J.S., Schatz, F., Masch, R., Lockwood, C.J., Schachter, A.D., Park, P.J., et al. (2003). Human decidual natural killer cells are a unique NK cell subset with immunomodulatory potential. *J. Exp. Med.* *198*, 1201–1212.
- Koucký, M., Malíčková, K., Cindrová-Davies, T., Germanová, A., Pařízek, A., Kalousová, M., Hájek,

- Z., a Zima, T. (2014). Low levels of circulating T-regulatory lymphocytes and short cervical length are associated with preterm labor. *J. Reprod. Immunol.* 106, 110–117.
- Kovats, S. (2012). Estrogen receptors regulate an inflammatory pathway of dendritic cell differentiation: mechanisms and implications for immunity. *Horm. Behav.* 62, 254–262.
- Králíčková, M., Šíma, R., Martínek, P., Vančček, T., Ulčová-Gallová, Z., Šíma, P., Křižan, J., Kališ, V., Štěpán, Štěpan, J., et al. (2007). Mutace v genu pro leukemický inhibiční faktor v populaci neplodných žen: Heterozygotní bodová záměna G za A na pozici 3400 neovlivňuje úspěšnost léčby. *Ces. Gynekol.* 72, 293–298.
- Krebs, C.J., Jarvis, E.D., Chan, J., Lydon, J.P., Ogawa, S., a Pfaff, D.W. (2000). A membrane-associated progesterone-binding protein, 25-Dx, is regulated by progesterone in brain regions involved in female reproductive behaviors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97, 12816–12821.
- Krietsch, T., Fernandes, M.S., Kero, J., Lösel, R., Heyens, M., Lam, E.W.-F., Huhtaniemi, I., Brosens, J.J., a Gellersen, B. (2006). Human homologs of the putative G protein-coupled membrane progestin receptors (mPR $\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\gamma$ ) localize to the endoplasmic reticulum and are not activated by progesterone. *Mol. Endocrinol.* 20, 3146–3164.
- Kuang, H., Peng, H., Xu, H., Zhang, B., Peng, J., a Tan, Y. (2010). Hormonal regulation of uterine natural killer cells in mouse preimplantation uterus. *J. Mol. Histol.* 41, 1–7.
- Kuklina, E.M., a Shirshov, S. V. (2005). Reproductive hormones in the control of Th1/Th2 cytokine balance. *Izv. Akad. Nauk Ser. Biol.* 273–280.
- Kunkel, S.L., Spengler, M., May, M.A., Spengler, R., Larrick, J., a Remick, D. (1988). Prostaglandin E2 regulates macrophage-derived tumor necrosis factor gene expression. *J. Biol. Chem.* 263, 5380–5384.
- Kurashige, T., Morita, H., Ogura, H., Kurashige, M., Kitamura, I., a Kamimura, O. (1986). The Effects of Hormone and Protein Increases During Pregnancy on Natural Killer (NK) Cell Activity. *Asia-Oceania J. Obstet. Gynaecol.* 12, 403–407.
- Kyurkchiev, D., Ivanova-Todorova, E., Hayrabedian, S., Altankova, I., a Kyurkchiev, S. (2007). Female sex steroid hormones modify some regulatory properties of monocyte-derived dendritic cells. *Am. J. Reprod. Immunol.* 58, 425–433.
- Laskarin, G., Tokmadžić, V.S., Strbo, N., Bogović, T., Szekeres-Bartho, J., Randić, L., Podack, E.R., a Rukavina, D. (2002). Progesterone induced blocking factor (PIBF) mediates progesterone induced suppression of decidual lymphocyte cytotoxicity. *Am. J. Reprod. Immunol.* 48, 201–209.
- Lee, Y., Sooranna, S.R., Terzidou, V., Christian, M., Brosens, J., Huhtinen, K., Poutanen, M., Barton, G., Johnson, M.R., a Bennett, P.R. (2012). Interactions between inflammatory signals and the progesterone receptor in regulating gene expression in pregnant human uterine myocytes. *J. Cell. Mol. Med.* 16, 2487–2503.
- Leonhardt, S.A., Boonyaratanakornkit, V., a Edwards, D.P. (2003). Progesterone receptor transcription and non-transcription signaling mechanisms. *Steroids* 68, 761–770.
- Li, H., Fidler, M.L., a Lim, C.S. (2005). Effect of initial subcellular localization of progesterone receptor on import kinetics and transcriptional activity. *Mol. Pharm.* 2, 509–518.
- Liang, J., Sun, L., Wang, Q., a Hou, Y. (2006). Progesterone regulates mouse dendritic cells differentiation and maturation. *Int. Immunopharmacol.* 6, 830–838.

- \*Lonard, D.M., Lanz, R.B., a O'Malley, B.W. (2007). Nuclear receptor coregulators and human disease. *Endocr. Rev.* 28, 575–587.
- \*Losel, R.M., Falkenstein, E., Feuring, M., Schultz, A., Tillmann, H.-C., Rossol-Haseroth, K., a Wehling, M. (2003). Nongenomic steroid action: controversies, questions, and answers. *Physiol. Rev.* 83, 965–1016.
- Lösel, R., Dorn-Beineke, A., Falkenstein, E., Wehling, M., a Feuring, M. (2004). Porcine spermatozoa contain more than one membrane progesterone receptor. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 36, 1532–1541.
- Lösel, R.M., Besong, D., Peluso, J.J., a Wehling, M. (2008). Progesterone receptor membrane component 1--many tasks for a versatile protein. *Steroids* 73, 929–934.
- Lu, J., Reese, J., Zhou, Y., a Hirsch, E. (2015). Progesterone-induced activation of membrane-bound progesterone receptors in murine macrophage cells. *J. Endocrinol.* 224, 183–194.
- Lucas, M., Schachterle, W., Oberle, K., Aichele, P., a Diefenbach, A. (2007). Dendritic cells prime natural killer cells by trans-presenting interleukin 15. *Immunity* 26, 503–517.
- Mackler, A.M. (1999). Macrophage Trafficking in the Uterus and Cervix Precedes Parturition in the Mouse. *Biol. Reprod.* 61, 879–883.
- Malan Borel, I., Gentile, T., Angelucci, J., Pividori, J., Guala, M.C., Binaghi, R.A., a Margni, R.A. (1991). IgG asymmetric molecules with antipaternal activity isolated from sera and placenta of pregnant human. *J. Reprod. Immunol.* 20, 129–140.
- \*Malíčková, K., Koucký, M., a Vrábliková, J. (2014). T-lymfocyty ve fyziologické a patologické graviditě. *Alergie* 2, 115–121.
- Mao, G., Wang, J., Kang, Y., Tai, P., Wen, J., Zou, Q., Li, G., Ouyang, H., Xia, G., a Wang, B. (2010). Progesterone increases systemic and local uterine proportions of CD4+CD25+ Treg cells during midterm pregnancy in mice. *Endocrinology* 151, 5477–5488.
- Margni, R.A., Paz, C.B., a Cordal, M.E. (1976). Immunochemical behavior of sheep non-precipitating antibodies isolated by immunoadsorption. *Immunochemistry* 13, 209–214.
- \*McEwen, B.S. (1991). Non-genomic and genomic effects of steroids on neural activity. *Trends Pharmacol. Sci.* 12, 141–147.
- Meyer, C., Schmid, R., Scriba, P.C., a Wehling, M. (1996). Purification and partial sequencing of high-affinity progesterone-binding site(s) from porcine liver membranes. *Eur. J. Biochem.* 239, 726–731.
- \*Miller, W.L. (2007). StAR search--what we know about how the steroidogenic acute regulatory protein mediates mitochondrial cholesterol import. *Mol. Endocrinol.* 21, 589–601.
- Miller, L., Alley, E.W., Murphy, W.J., Russell, S.W., a Hunt, J.S. (1996). Progesterone inhibits inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide production in murine macrophages. *J. Leukoc. Biol.* 59, 442–450.
- Misao, R., Nakanishi, Y., Iwagaki, S., Fujimoto, J., a Tamaya, T. (1998). Expression of progesterone receptor isoforms in corpora lutea of human subjects: correlation with serum oestrogen and progesterone concentrations. *Mol. Hum. Reprod.* 4, 1045–1052.
- Miyaura, H., a Iwata, M. (2002). Direct and indirect inhibition of Th1 development by progesterone and glucocorticoids. *J. Immunol.* 168, 1087–1094.

- Mjösberg, J., Berg, G., Jenmalm, M.C., a Ernerudh, J. (2010). FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells and T helper 1, T helper 2, and T helper 17 cells in human early pregnancy decidua. *Biol. Reprod.* *82*, 698–705.
- \*Monnet, F.P., a Maurice, T. (2006). The sigma1 protein as a target for the non-genomic effects of neuro(active)steroids: molecular, physiological, and behavioral aspects. *J. Pharmacol. Sci.* *100*, 93–118.
- Mori, A., Zhai, Y.L., Toki, T., Nikaido, T., a Fujii, S. (1997). Distribution and heterogeneity of mast cells in the human uterus. *Hum. Reprod.* *12*, 368–372.
- Nakashima, M., Suzuki, M., Saida, M., Kamei, Y., Hossain, M.B., a Tokumoto, T. (2015). Cell-based assay of nongenomic actions of progestins revealed inhibitory G protein coupling to membrane progestin receptor  $\alpha$  (mPR $\alpha$ ). *Steroids* *100*, 21–26.
- Nasu-Nishimura, Y., Hurtado, D., Braud, S., Tang, T.T.-T., Isaac, J.T.R., a Roche, K.W. (2006). Identification of an endoplasmic reticulum-retention motif in an intracellular loop of the kainate receptor subunit KA2. *J. Neurosci.* *26*, 7014–7021.
- Negishi, Y., Wakabayashi, A., Shimizu, M., Ichikawa, T., Kumagai, Y., Takeshita, T., a Takahashi, H. (2012). Disruption of maternal immune balance maintained by innate DC subsets results in spontaneous pregnancy loss in mice. *Immunobiology* *217*, 951–961.
- Nilsson, E.E., Stanfield, J., a Skinner, M.K. (2006). Interactions between progesterone and tumor necrosis factor-alpha in the regulation of primordial follicle assembly. *Reproduction* *132*, 877–886.
- Oh, M.-J., a Croy, B.A. (2008). A map of relationships between uterine natural killer cells and progesterone receptor expressing cells during mouse pregnancy. *Placenta* *29*, 317–323.
- Ottander, U., Hosokawa, K., Liu, K., Bergh, A., Ny, T., a Olofsson, J.I. (2000). A putative stimulatory role of progesterone acting via progesterone receptors in the steroidogenic cells of the human corpus luteum. *Biol. Reprod.* *62*, 655–663.
- Padilla, L., Reinicke, K., Montesino, H., Villena, F., Asencio, H., Cruz, M., a Rudolph, M.I. (1990). Histamine content and mast cells distribution in mouse uterus: the effect of sexual hormones, gestation and labor. *Cell. Mol. Biol.* *36*, 93–100.
- Palmer, C.P., Mahen, R., Schnell, E., Djamgoz, M.B.A., a Aydar, E. (2007). Sigma-1 receptors bind cholesterol and remodel lipid rafts in breast cancer cell lines. *Cancer Res.* *67*, 11166–11175.
- Park-Sarge, O.K., Parmer, T.G., Gu, Y., a Gibori, G. (1995). Does the rat corpus luteum express the progesterone receptor gene? *Endocrinology* *136*, 1537–1543.
- Peluso, J.J. (2001). Characterization of a Putative Membrane Receptor for Progesterone in Rat Granulosa Cells. *Biol. Reprod.* *65*, 94–101.
- Peluso, J.J., Pappalardo, A., Losel, R., a Wehling, M. (2006). Progesterone membrane receptor component 1 expression in the immature rat ovary and its role in mediating progesterone's antiapoptotic action. *Endocrinology* *147*, 3133–3140.
- Plaks, V., Birnberg, T., Berkutzki, T., Sela, S., BenYashar, A., Kalchenko, V., Mor, G., Keshet, E., Dekel, N., Neeman, M., et al. (2008). Uterine DCs are crucial for decidua formation during embryo implantation in mice. *J. Clin. Invest.* *118*, 3954–3965.
- Polan, M.L., Kuo, A., Loukides, J., a Bottomly, K. (1990). Cultured human luteal peripheral

- monocytes secrete increased levels of interleukin-1. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *70*, 480–484.
- Pollard, J.W., Bartocci, A., Arceci, R., Orlofsky, A., Ladner, M.B., a Stanley, E.R. (1987). Apparent role of the macrophage growth factor, CSF-1, in placental development. *Nature* *330*, 484–486.
- Pollard, J.W., Hunt, J.S., Wiktor-Jedrzejczak, W., a Stanley, E.R. (1991). A pregnancy defect in the osteopetrotic (op/op) mouse demonstrates the requirement for CSF-1 in female fertility. *Dev. Biol.* *148*, 273–283.
- Pollard, J.W., Lin, E.Y., a Zhu, L. (1998). Complexity in uterine macrophage responses to cytokines in mice. *Biol. Reprod.* *58*, 1469–1475.
- Pongcharoen, S., a Supalap, K. (2009). Interleukin-17 increased progesterone secretion by JEG-3 human choriocarcinoma cells. *Am. J. Reprod. Immunol.* *61*, 261–264.
- Putnam, C.D. (1991). Inhibition of uterine contractility by progesterone and progesterone metabolites: mediation by progesterone and gamma amino butyric acidA receptor systems. *Biol. Reprod.* *45*, 266–272.
- Qu, X., Yang, M., Zhang, W., Liang, L., Yang, Y., Zhang, Y., Deng, B., Gao, W., Liu, J., Yang, Q., et al. (2008). Osteopontin expression in human decidua is associated with decidual natural killer cells recruitment and regulated by progesterone. *In Vivo* *22*, 55–61.
- Raghupathy, R., Al Mutawa, E., Makhseed, M., Azizieh, F., a Szekeres-Bartho, J. (2005). Modulation of cytokine production by dydrogesterone in lymphocytes from women with recurrent miscarriage. *BJOG* *112*, 1096–1101.
- Ravindranath, N., Little-Ihrig, L., Benyo, D.F., a Zeleznik, A.J. (1992). Role of luteinizing hormone in the expression of cholesterol side-chain cleavage cytochrome P450 and 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase, delta 5-4 isomerase messenger ribonucleic acids in the primate corpus luteum. *Endocrinology* *131*, 2065–2070.
- Rayasam, G. V, Elbi, C., Walker, D.A., Wolford, R., Fletcher, T.M., Edwards, D.P., a Hager, G.L. (2005). Ligand-specific dynamics of the progesterone receptor in living cells and during chromatin remodeling in vitro. *Mol. Cell. Biol.* *25*, 2406–2418.
- Raza, F.S., Takemori, H., Tojo, H., Okamoto, M., a Vinson, G.P. (2001). Identification of the rat adrenal zona fasciculata/reticularis specific protein, inner zone antigen (IZAg), as the putative membrane progesterone receptor. *Eur. J. Biochem.* *268*, 2141–2147.
- Rekawiecki, R., Kowalik, M.K., Slonina, D., a Kotwica, J. (2008). Regulation of progesterone synthesis and action in bovine corpus luteum.
- Ren, Z., Riley, N.J., Garcia, E.P., Sanders, J.M., Swanson, G.T., a Marshall, J. (2003). Multiple Trafficking Signals Regulate Kainate Receptor KA2 Subunit Surface Expression. *J. Neurosci.* *23*, 6608–6616.
- Richer, J.K., Jacobsen, B.M., Manning, N.G., Abel, M.G., Wolf, D.M., a Horwitz, K.B. (2002). Differential gene regulation by the two progesterone receptor isoforms in human breast cancer cells. *J. Biol. Chem.* *277*, 5209–5218.
- Robertson, S. a, Guerin, L.R., Bromfield, J.J., Branson, K.M., Ahlström, A.C., a Care, A.S. (2009). Seminal fluid drives expansion of the CD4+CD25+ T regulatory cell pool and induces tolerance to paternal alloantigens in mice. *Biol. Reprod.* *80*, 1036–1045.

- Robertson, S.A., Mayrhofer, G., a Seamark, R.F. (1996). Ovarian steroid hormones regulate granulocyte-macrophage colony-stimulating factor synthesis by uterine epithelial cells in the mouse. *Biol. Reprod.* *54*, 183–196.
- Robinson, D.P., a Klein, S.L. (2012). Pregnancy and pregnancy-associated hormones alter immune responses and disease pathogenesis. *Horm. Behav.* *62*, 263–271.
- Rowe, J.H., Ertelt, J.M., Xin, L., a Way, S.S. (2012). Pregnancy imprints regulatory memory that sustains anergy to fetal antigen. *Nature* *490*, 102–106.
- \*Ruocco, M.G., Chaouat, G., Florez, L., Bensussan, A., a Klatzmann, D. (2014). Regulatory T-cells in pregnancy: historical perspective, state of the art, and burning questions. *Front. Immunol.* *5*, 389.
- \*Saito, S. (2000). Cytokine network at the feto-maternal interface. *J. Reprod. Immunol.* *47*, 87–103.
- \*Saito, S., Nakashima, A., Shima, T., a Ito, M. (2010). Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.* *63*, 601–610.
- Saito, S., Nakashima, A., Ito, M., a Shima, T. (2011). Clinical implication of recent advances in our understanding of IL-17 and reproductive immunology. *Expert Rev. Clin. Immunol.* *7*, 649–657.
- Samstein, R.M., Josefowicz, S.Z., Arvey, A., Treuting, P.M., a Rudensky, A.Y. (2012). Extrathymic generation of regulatory T cells in placental mammals mitigates maternal-fetal conflict. *Cell* *150*, 29–38.
- Santner-Nanan, B., Peek, M.J., Khanam, R., Richarts, L., Zhu, E., Fazekas de St Groth, B., a Nanan, R. (2009). Systemic increase in the ratio between Foxp3+ and IL-17-producing CD4+ T cells in healthy pregnancy but not in preeclampsia. *J. Immunol.* *183*, 7023–7030.
- Sasson, R., Rimon, E., Dantes, A., Cohen, T., Shinder, V., Land-Bracha, A., a Amsterdam, A. (2004). Gonadotrophin-induced gene regulation in human granulosa cells obtained from IVF patients. Modulation of steroidogenic genes, cytoskeletal genes and genes coding for apoptotic signalling and protein kinases. *Mol. Hum. Reprod.* *10*, 299–311.
- Selye, H. (1942). Correlations between the chemical structure and the pharmacological actions of the steroids. *Endocrinology* *30*, 437–453.
- Shao, R., Markström, E., Friberg, P.A., Johansson, M., a Billig, H. (2003). Expression of progesterone receptor (PR) A and B isoforms in mouse granulosa cells: stage-dependent PR-mediated regulation of apoptosis and cell proliferation. *Biol. Reprod.* *68*, 914–921.
- Shirshv, S. V., Orlova, E.G., Zamorina, S.A., a Nekrasova, I. V. (2011). Influence of reproductive hormones on the induction of CD4+CD25brightFoxP3+ regulatory T cells. *Dokl. Biol. Sci.* *440*, 343–346.
- Shivaji, S., a Jagannadham, M. V (1992). Steroid-induced perturbations of membranes and its relevance to sperm acrosome reaction. *Biochim. Biophys. Acta* *1108*, 99–109.
- Schumacher, A., Heinze, K., Witte, J., Poloski, E., Linzke, N., Woidacki, K., a Zenclussen, A.C. (2013). Human chorionic gonadotropin as a central regulator of pregnancy immune tolerance. *J. Immunol.* *190*, 2650–2658.
- Smith, D.F., Stensgard, B.A., Welch, W.J., a Toft, D.O. (1992). Assembly of progesterone receptor with heat shock proteins and receptor activation are ATP mediated events. *J. Biol. Chem.* *267*, 1350–1356.

- Somerset, D.A., Zheng, Y., Kilby, M.D., Sansom, D.M., a Drayson, M.T. (2004). Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25+ CD4+ regulatory T-cell subset. *Immunology* 112, 38–43.
- \*Sonoda, N., Katabuchi, H., Tashiro, H., Ohba, T., Nishimura, R., Minegishi, T., a Okamura, H. (2005). Expression of variant luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptors and degradation of chorionic gonadotropin in human chorionic villous macrophages. *Placenta* 26, 298–307.
- \*Spornitz, U.M. (1992). The functional morphology of the human endometrium and decidua. *Adv. Anat. Embryol. Cell Biol.* 124, 1–99.
- Suchanek, M., Radzikowska, A., a Thiele, C. (2005). Photo-leucine and photo-methionine allow identification of protein-protein interactions in living cells. *Nat. Methods* 2, 261–267.
- Sun, Y., Cai, J., Ma, F., Lü, P., Huang, H., a Zhou, J. (2012). miR-155 mediates suppressive effect of progesterone on TLR3, TLR4-triggered immune response. *Immunol. Lett.* 146, 25–30.
- Talbi, S., Hamilton, A.E., Vo, K.C., Tulac, S., Overgaard, M.T., Dosiou, C., Le Shay, N., Nezhat, C.N., Kempson, R., Lessey, B.A., et al. (2006). Molecular phenotyping of human endometrium distinguishes menstrual cycle phases and underlying biological processes in normo-ovulatory women. *Endocrinology* 147, 1097–1121.
- Tanabe, Y., Nakamura, T., Fujioka, K., a Doi, O. (1979). Production and secretion of sex steroid hormones by the testes, the ovary, and the adrenal glands of embryonic and young chickens (*Gallus domesticus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 39, 26–33.
- Tang, Y.T., Hu, T., Arterburn, M., Boyle, B., Bright, J.M., Emtage, P.C., a Funk, W.D. (2005). PAQR proteins: a novel membrane receptor family defined by an ancient 7-transmembrane pass motif. *J. Mol. Evol.* 61, 372–380.
- \*Taraborrelli, S. (2015). Physiology, production and action of progesterone. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 94 Suppl 1, 8–16.
- Tayade, C., Hilchie, D., He, H., Fang, Y., Moons, L., Carmeliet, P., Foster, R.A., a Croy, B.A. (2007). Genetic deletion of placenta growth factor in mice alters uterine NK cells. *J. Immunol.* 178, 4267–4275.
- Taylor, A.H., McParland, P.C., Taylor, D.J., a Bell, S.C. (2009). The cytoplasmic 60 kDa progesterone receptor isoform predominates in the human amniochorion and placenta at term. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 7, 22.
- Teles, A., Schumacher, A., Kühnle, M.-C., Linzke, N., Thuere, C., Reichardt, P., Tadokoro, C.E., Hämmerling, G.J., a Zenclussen, A.C. (2013). Control of uterine microenvironment by foxp3(+) cells facilitates embryo implantation. *Front. Immunol.* 4, 158.
- Terme, M., Chaput, N., Combadiere, B., Ma, A., Ohteki, T., a Zitvogel, L. (2008). Regulatory T Cells Control Dendritic Cell/NK Cell Cross-Talk in Lymph Nodes at the Steady State by Inhibiting CD4+ Self-Reactive T Cells. *J. Immunol.* 180, 4679–4686.
- Thuere, C., Zenclussen, M.L., Schumacher, A., Langwisch, S., Schulte-Wrede, U., Teles, A., Paeschke, S., Volk, H.-D., a Zenclussen, A.C. (2007). Kinetics of Regulatory T Cells During Murine Pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.* 58, 514–523.
- Tsai, S.Y., Carlstedt-Duke, J., Weigel, N.L., Dahlman, K., Gustafsson, J.A., Tsai, M.J., a O'Malley, B.W. (1988). Molecular interactions of steroid hormone receptor with its enhancer element: evidence



for receptor dimer formation. *Cell* 55, 361–369.

Tubbs, C., Pace, M., a Thomas, P. (2010). Expression and gonadotropin regulation of membrane progesterin receptor alpha in Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*) gonads: role in gamete maturation. *Gen. Comp. Endocrinol.* 165, 144–154.

Tyagi, R.K., Amazit, L., Lescop, P., Milgrom, E., a Guiochon-Mantel, A. (2013). Mechanisms of Progesterone Receptor Export from Nuclei: Role of Nuclear Localization Signal, Nuclear Export Signal, and Ran Guanosine Triphosphate. *Mol. Endocrinol.*

Uemura, Y., Liu, T.-Y., Narita, Y., Suzuki, M., a Matsushita, S. (2008). 17 Beta-estradiol (E2) plus tumor necrosis factor-alpha induces a distorted maturation of human monocyte-derived dendritic cells and promotes their capacity to initiate T-helper 2 responses. *Hum. Immunol.* 69, 149–157.

Valera, S., Ballivet, M., a Bertrand, D. (1992). Progesterone modulates a neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 89, 9949–9953.

Vasiadi, M., Kempuraj, D., Boucher, W., Kalogeromitros, D., a Theoharides, T.C. (2006). Progesterone inhibits mast cell secretion. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 19, 787–794.

Vegeto, E., Shahbaz, M.M., Wen, D.X., Goldman, M.E., O'Malley, B.W., a McDonnell, D.P. (1993). Human progesterone receptor A form is a cell- and promoter-specific repressor of human progesterone receptor B function. *Mol. Endocrinol.* 7, 1244–1255.

Wan, H., Versnel, M.A., Leijten, L.M.E., van Helden-Meeuwsen, C.G., Fekkes, D., Leenen, P.J.M., Khan, N.A., Benner, R., a Kiekens, R.C.M. (2008). Chorionic gonadotropin induces dendritic cells to express a tolerogenic phenotype. *J. Leukoc. Biol.* 83, 894–901.

Wang, J.M., Johnston, P.B., Ball, B.G., a Brinton, R.D. (2005). The neurosteroid allopregnanolone promotes proliferation of rodent and human neural progenitor cells and regulates cell-cycle gene and protein expression. *J. Neurosci.* 25, 4706–4718.

Wei, L.L., Hawkins, P., Baker, C., Norris, B., Sheridan, P.L., a Quinn, P.G. (1996). An amino-terminal truncated progesterone receptor isoform, PRc, enhances progestin-induced transcriptional activity. *Mol. Endocrinol.* 10, 1379–1387.

Wen, D.X., Xu, Y.F., Mais, D.E., Goldman, M.E., a McDonnell, D.P. (1994). The A and B isoforms of the human progesterone receptor operate through distinct signaling pathways within target cells. *Mol. Cell. Biol.* 14, 8356–8364.

Winship, A., Correia, J., Krishnan, T., Menkhorst, E., Cuman, C., Zhang, J.-G., Nicola, N.A., a Dimitriadis, E. (2015a). Blocking Endogenous Leukemia Inhibitory Factor During Placental Development in Mice Leads to Abnormal Placentation and Pregnancy Loss. *Sci. Rep.* 5, 13237.

Winship, A., Correia, J., Zhang, J.G., Nicola, N.A., a Dimitriadis, E. (2015b). Leukemia inhibitory factor (LIF) inhibition during mid-gestation impairs trophoblast invasion and spiral artery remodelling during pregnancy in mice. *PLoS One* 10.

Woidacki, K., Popovic, M., Metz, M., Schumacher, A., Linzke, N., Teles, A., Poirier, F., Fest, S., Jensen, F., Rabinovich, G.A., et al. (2013). Mast cells rescue implantation defects caused by c-kit deficiency. *Cell Death Dis.* 4, e462.

Xiong, H., Zhou, C., a Qi, G. (2010). Proportional changes of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells in maternal peripheral blood during pregnancy and labor at term and preterm. *Clin. Investig. Med. Médecine Clin. Exp.* 33, E422.

- Xu, Y., He, H., Li, C., Shi, Y., Wang, Q., Li, W., a Song, W. (2011). Immunosuppressive effect of progesterone on dendritic cells in mice. *J. Reprod. Immunol.* *91*, 17–23.
- Yagel, S., Hurwitz, A., Rosenn, B., a Keizer, N. (1987). Progesterone Enhancement of Prostaglandin E2 Production by Fetal Placental Macrophages. *Am. J. Reprod. Immunol. Microbiol.* *14*, 45–48.
- Yamamoto, H., Fukunaga, K., Tanaka, E., a Miyamoto, E. (1983). Ca<sup>2+</sup>- and calmodulin-dependent phosphorylation of microtubule-associated protein 2 and tau factor, and inhibition of microtubule assembly. *J. Neurochem.* *41*, 1119–1125.
- Zenclussen, A.C., Gentile, T., Kortebani, G., Mazzolli, A., a Margni, R. (2001). Asymmetric antibodies and pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.* *45*, 289–294.
- Zhang, L., Kanda, Y., Roberts, D.J., Ecker, J.L., Losel, R., Wehling, M., Peluso, J.J., a Pru, J.K. (2008). Expression of progesterone receptor membrane component 1 and its partner serpine 1 mRNA binding protein in uterine and placental tissues of the mouse and human. *Mol. Cell. Endocrinol.* *287*, 81–89.
- Zhang, Q.H., Huang, Y.H., Hu, Y.Z., Wei, G.Z., Lu, S.Y., a Zhao, Y.F. (2004). Predominant Th2-type response during normal pregnancy of rats. *Sheng li xue bao [Acta Physiol. Sin.]* *56*, 258–262.
- Zhao, J., Zeng, Y., a Liu, Y. (2007). Fetal alloantigen is responsible for the expansion of the CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cell pool during pregnancy. *J. Reprod. Immunol.* *75*, 71–81.
- Zheng, Y., Josefowicz, S., Chaudhry, A., Peng, X.P., Forbush, K., a Rudensky, A.Y. (2010). Role of conserved non-coding DNA elements in the Foxp3 gene in regulatory T-cell fate. *Nature* *463*, 808–812.
- Zhu, Y., Bond, J., a Thomas, P. (2003a). Identification, classification, and partial characterization of genes in humans and other vertebrates homologous to a fish membrane progesterin receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *100*, 2237–2242.
- Zhu, Y., Rice, C.D., Pang, Y., Pace, M., a Thomas, P. (2003b). Cloning, expression, and characterization of a membrane progesterin receptor and evidence it is an intermediary in meiotic maturation of fish oocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *100*, 2231–2236.