

Expresión de citoquinas durante la gestación porcina

Cytokine expression during pig pregnancy

Expressão de citocinas durante a gestação de porcos

Giai LR¹, Williamson DM¹, Vélez C^{1,2}, Clazure M^{1,2}

- 1 Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa (UNLPam). Calle 5 esquina 116. 6360 General Pico, La Pampa, Argentina.
- 2 Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Correo electrónico: mclazure@vet.unlpam.edu.ar

DOI: <http://dx.doi.org/10.19137/cienvet20224205>

Fecha de recepción del artículo: 08/03/2022

Fecha de aceptación para su publicación: 26/05/22

RESUMEN

La producción porcina en Argentina se encuentra en constante crecimiento. El manejo reproductivo es fundamental para alcanzar índices óptimos de nacimientos que se traduzcan en una mayor rentabilidad y eficiencia de la inversión ya que las pérdidas prenatales limitan la producción porcina. En la gestación pueden ocurrir alteraciones en la migración de los embriones, su elongación, el reconocimiento inmunológico de la preñez por la madre y la competencia embrionaria por el lugar de implantación. Para que la gestación sea exitosa, el diálogo que se establece entre el *conceptus* y el endometrio involucra, entre otros, al sistema inmunológico y sus moléculas llamadas citoquinas. Las citoquinas son un grupo de proteínas de bajo peso molecular que actúan mediando interacciones complejas entre distintos tipos celulares. Numerosos estudios describen el rol de diversas citoquinas que se encuentran involucradas en la regulación del proceso inflamatorio característico de la interfase feto/materna a lo largo de la gestación



porcina normal. En esta revisión se describen las principales citoquinas que actúan durante la gestación porcina tanto en el período de gestación temprana como en el período de gestación tardía.

Palabras clave: Porcinos, Gestación, Citoquinas, Inmunología, Reproducción

ABSTRACT

Pig production in Argentina is constantly growing. Reproductive management is essential to achieve optimal birth rates that translate into greater profitability and investment efficiency. Prenatal losses limit pig production. Alterations in the migration of the embryos, elongation, immunological recognition of pregnancy by the mother and embryonic competition for the implantation site can arise in this process. In a successful pregnancy, the dialogue established between the conceptus and the endometrium involves, among others, the immune system and its main molecules called cytokines. Cytokines are a group of low molecular weight proteins that mediate complex interactions between different cell types. Numerous studies describe the role of various cytokines that are involved in the regulation of the inflammatory process characteristic of the fetus/maternal interface throughout the normal pig pregnancy. This review describes the main cytokines that act during pig pregnancy, both in the early gestation period and in the late pregnancy period.

Keywords: Pigs, Gestation, Cytokines, Immunology, Reproduction

RESUMO

A produção suína na Argentina está em constante crescimento. O manejo reprodutivo é essencial para atingir índices ótimos que se traduzam em maior rentabilidade e eficiência do investimento, uma vez que as perdas pré-natais limitam a produção de suínos. Na patogênese do processo de gestação intervêm alterações na migração dos embriões, seu alongamento, o reconhecimento imunológico da gravidez pela mãe e a competição embrionária pelo local de implantação. Para que a gravidez seja bem sucedida, o diálogo estabelecido entre o concepto e o endométrio envolve, entre outros, o sistema imunológico e suas moléculas chamadas citocinas. As citocinas são um grupo de proteínas de baixo peso molecular que medeiam interações complexas entre diferentes tipos de células. Numerosos estudos descrevem o papel de várias citocinas que estão envolvidas na regulação do processo

inflamatório característico da interface feto/materno durante a gestação suína. Nesta revisão, são descritas as principais citocinas que atuam durante a gestação de suínos, tanto no início da gestação quanto no final da gestação.

Palavras-chave: Suínos, Gestação, Citocinas, Imunologia, Reprodução.

Introducción

Las especies de ganado doméstico han permitido realizar investigaciones biomédicas con una serie de modelos convincentes que han brindado oportunidades para generar conocimientos sobre fisiología y múltiples enfermedades. Desde hace años se han estudiado distintos aspectos únicos de la preñez en animales de granja, con el fin de desentrañar los mecanismos que regulan la fertilidad y el desarrollo prenatal en mamíferos ⁽¹⁾. A pesar de los numerosos trabajos científicos que existen sobre la gestación porcina, aún permanecen gran cantidad de mecanismos sin dilucidar.

La producción porcina se encuentra en constante crecimiento. El manejo reproductivo es fundamental para alcanzar índices óptimos que se traduzcan en una mayor rentabilidad y eficiencia de la inversión. Las pérdidas prenatales limitan la producción. En la patogenia de estas pérdidas intervienen alteraciones en la migración de los embriones, su elongación, el reconocimiento inmunológico de la preñez por la madre, la competencia embrionaria por el lugar de implantación y otros mecanismos diversos ⁽²⁾.

Las cerdas preñadas han sido un recurso excepcional para comprender aspectos de la biología reproductiva ^(3, 4), supervivencia embrionaria/fetal, crecimiento y desarrollo ⁽³⁾, placentación porcina ^(4, 5), intercambio de nutrientes y gases entre la madre y el *conceptus* (producto de la concepción en cualquier etapa de desarrollo, desde la fertilización al nacimiento, que incluye el embrión o el feto y las membranas embrionarias), endocrinología de la preñez, mamogénesis y lactogénesis ⁽¹⁾.

GESTACIÓN PORCINA

El cerdo (*Sus scrofa*) es un mamífero de alto valor productivo adaptado para la producción de carne, dado que crece y madura con rapidez. La hembra porcina es poliéstrica anual y alcanza la pubertad a los 6-7 meses de edad. El ciclo estral dura aproximadamente 21 días, con

una tasa de ovulación media de 15-25 óvulos/ciclo ⁽³⁾. La gestación dura aproximadamente 114 días y es un proceso fisiológico que obedece a precisas interacciones entre el *conceptus* y su madre, las cuales se llevan a cabo mediante el desarrollo de la placenta ⁽⁴⁾.

La placenta es un órgano transitorio formado por tejidos maternos y embrionarios, responsable de la aceptación del *conceptus*, la supervivencia de los embriones y el éxito de la gestación ⁽⁴⁾. Luego de la fecundación, el cigoto es transportado hacia los cuernos uterinos para su implantación en el endometrio. La implantación es un proceso progresivo en el que el *conceptus* se aproxima y adhiere al endometrio materno. La implantación del blastocisto porcino comienza alrededor de los 8-10 días de gestación, período durante el cual se produce un marcado remodelaje uterino y la diferenciación del *conceptus*. Este va cambiando de una forma esférica a una tubular y luego a larga filamentosa. Es así como los embriones tempranos van cubriendo toda la superficie uterina para luego terminar adhiriéndose a ella ^(4, 5). Durante este proceso de elongación, el trofoblasto, capa externa de células epiteliales que rodea el blastocisto y está en contacto con el endometrio, secreta estrógenos que actúan como señal en el reconocimiento de la preñez ⁽⁶⁾ y como marcador de elongación del mismo ^(4, 7, 8). Para que se produzca la aposición trofoblástica se requiere un endometrio receptivo, un embrión normal y funcional, y un diálogo o comunicación cruzada entre estos dos organismos que son diferentes inmunológica y genéticamente ⁽⁹⁾. Una vez completada la aposición de los epitelios trofoblástico y endometrial continua el desarrollo de la placenta ^(10, 4).

La placenta porcina requiere de la adhesión entre las membranas fetales y el endometrio, lo que permite el intercambio fisiológico entre el feto y la madre ⁽⁴⁾. Dentro de las funciones que realiza se destaca el rol que presenta al generar tolerancia inmunológica frente al *conceptus* en desarrollo, asegurando su supervivencia ⁽³⁾. Es también un órgano endocrino, ya que sintetiza hormonas esteroides y peptídicas, y diferentes factores de crecimiento que, actuando en conjunto, se encargan de llevar la gestación a término. Regula la homeostasis de la unidad feto-placentaria permitiendo el intercambio constante de gases, nutrientes y desechos entre el feto y la madre ⁽⁴⁾. También cumple una función protectora frente a traumatismos o a agentes infecciosos ⁽⁴⁾.

Según la especie, existen diversos tipos de placenta, que varían por su constitución y tipo de capas celulares que se interponen entre la sangre de la madre y la sangre del embrión ⁽⁴⁾. En el caso del cerdo, la placenta es de tipo epiteliochorial, no invasiva, adecidua, plegada y difusa ⁽¹¹⁾. Anatómicamente se pueden distinguir claramente en la placenta porcina tres regiones. Una es la zona embrionaria, ubicada en el centro del corion que contiene al embrión propiamente dicho rodeado por

la membrana corioalantoidea. La segunda región es la zona parapla-centaria, la cual incluye membranas extraembrionarias y se encuentra a ambos lados de la región embrionaria. La tercera región es la compuesta por los extremos avasculares o apéndices necróticos, denominados así porque carecen de vellosidades y vascularización; su función es sellar la unidad feto-placentaria y separarla de las placentas adyacentes ^(3, 4). Para que la gestación se lleve a cabo, el diálogo que se establece entre el *conceptus* y el endometrio involucra, entre otros, al sistema inmunológico. Este sistema involucra a numerosas citoquinas. El equilibrio de la expresión de estas moléculas logra que se minimicen las posibilidades de rechazo del embrión.

CITOQUINAS

Las citoquinas son un grupo de proteínas de bajo peso molecular que actúan mediando interacciones complejas entre distintos tipos celulares ⁽⁹⁾. Sus funciones son muy variadas, entre ellas se pueden mencionar la diferenciación y maduración de células del sistema inmunitario, la comunicación entre células del sistema inmunitario, y en algunos casos, ejercen funciones efectoras directas ⁽¹²⁾. Las citoquinas son sintetizadas por múltiples tipos celulares, principalmente del sistema inmune. Su acción puede ser de tipo autocrino, de tipo paracrino y en pocas ocasiones de tipo endocrino. Se unen a receptores específicos de la membrana de las células donde van a ejercer su función, iniciando una cascada de transducción intracelular de señal que altera el patrón de expresión génica, de modo que esas células diana producen una determinada respuesta biológica ^(9, 12).

Existe evidencia que indica que diversas citoquinas participan en la regulación de la reproducción. Muchos estudios han demostrado la importancia de las citoquinas en las primeras etapas de la preñez, especialmente en la regulación de la inmunidad materna frente a los embriones ⁽¹³⁾. Durante la gestación temprana, el endometrio produce numerosas citoquinas pro- y antiinflamatorias, así como varias moléculas de señalización ⁽¹⁴⁾.

A lo largo de esta revisión, se describirán las características de las principales citoquinas que actúan durante la gestación porcina.

INTERLEUQUINA 1 β

La Interleuquina 1 β (IL-1 β) es una citoquina proinflamatoria con múltiples funciones en la respuesta inmune. Actúa como mediador central de la inflamación y la inmunidad innata en los mamíferos ^(15, 16). Su síntesis se produce en forma de una proteína precursora que luego madura al ser escindida mediante la actividad

de complejos que se denominan inflammasomas ⁽¹⁷⁾. La IL-1 β media sus efectos biológicos a través de un receptor de membrana denominado receptor de la IL-1 de tipo I (IL-1RI), el cual contiene un dominio de transducción de señales en la región citoplásmica ⁽¹⁸⁾. Luego de la unión de la IL-1 β al receptor, la transducción de señales implica varias fosforilaciones y la formación de nuevos complejos con otras quinasas y proteínas adaptadoras, que finalmente dan lugar a la activación del NF- κ B (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas) y AP-1 (proteína activadora 1), entre otros factores de transcripción involucrados en su señalización ^(19,20).

El rol de la IL-1 β ha sido ampliamente estudiado en el período de implantación de distintas especies ⁽²¹⁾. Esta citoquina participa en el desarrollo del trofoblasto y comunicación con el endometrio y es necesaria para una correcta implantación ⁽²¹⁾. En los porcinos, la IL-1 β está codificada por dos variantes del gen: *IL-1 β 1* e *IL-1 β 2* ^(22,23). El gen de *IL-1 β 1* transcribe la citoquina prototípica y es expresada por tejidos adultos, incluidos los leucocitos sanguíneos y el endometrio ^(22, 24). El gen de *IL-1 β 2* es transcrito por el *conceptus* temprano y su expresión es máxima y esencial durante la etapa de alargamiento de este ^(22, 24, 25). Por otro lado, los niveles de expresión proteica de la IL-1 β en el *conceptus* aumentan entre los días 11 y 15 de la gestación y luego disminuyen ^(26, 27, 28, 29), al igual que la caspasa-1 y el factor de transcripción NF- κ B ⁽²²⁾. La IL-1 β en este período puede promover la reorganización de las células del trofoblasto y la motilidad al aumentar la fluidez de la membrana celular y modificar las moléculas de actina durante el alargamiento rápido ⁽³⁰⁾. Estudios realizados en primates y roedores indican que los aumentos de la expresión de la IL-1 β en embriones tempranos aumentarían la expresión de moléculas de adhesión en el endometrio ⁽³¹⁾. También se ha descrito un aumento de expresión de IL-1RI en tejidos de placenta materna durante la implantación, confirmando la efectiva señalización de la IL-1 β ^(27, 28). Mathew et al. ⁽²⁴⁾ afirman que la IL-1 β incrementa la motilidad de las células epiteliales en cultivo de las vías respiratorias, neutrófilos y células tumorales mediante modificaciones realizadas a las integrinas celulares y los filamentos de actina. Es posible que la IL-1 β , sintetizada por el *conceptus* en el cerdo, como ocurre en otros mamíferos, cree un microambiente proinflamatorio dentro del endometrio que promueve la implantación y el establecimiento de la preñez. Este microambiente proinflamatorio puede incluir un bucle de retroalimentación positiva de IL-1 que implica a la IL-1 β del *conceptus* y la IL-1 β endometrial ⁽²⁴⁾. Por otro lado, es bien conocido que la IL-1 β aumenta la permeabilidad de los vasos

sanguíneos y la extravasación de leucocitos en tejidos periféricos, sugiriendo un rol de esta citoquina en la modulación de estos procesos durante la implantación en cerdos ⁽²⁴⁾.

Luego de la correcta implantación, la IL-1 β cumple un rol crucial al proveer un ambiente de tipo proinflamatorio favorable para la placentación a lo largo del período de gestación. Tuo *et al.* ⁽²⁶⁾ describieron la expresión de ARNm de IL-1 β en *conceptus* y placenta fetal desde los 11 hasta los 45 días de gestación. A nivel proteico, está descrito que la IL-1 β se expresa en placenta presentando un pico en su concentración en placenta fetal a los 60 días de gestación y en placenta materna a los 70, disminuyendo en ambos casos hacia los 114 días de gestación ^(32, 33). Esta expresión implicaría un rol de la IL-1 β en la etapa de mayor remodelación placentaria, favoreciendo un ambiente de tipo proinflamatorio en la interfase feto-materna para regular la apoptosis y la proliferación celular; mecanismos fundamentales para la placentación porcina. Por otro lado, Vélez *et al.* ^(32, 33) encontraron niveles séricos basales de la IL-1 β durante la gestación pero que aumentan significativamente al final de esta. Al igual que en humanos y bovinos, este aumento de la IL-1 β podría activar el sistema inmune proinflamatorio (incluyendo macrófagos, neutrófilos y células NK) a fin de preparar la expulsión de las placentas en el parto ^(34, 35, 36, 37, 38).

INTERFERÓN γ e INTERFERÓN δ

Luego de la alta expresión de la IL-1 β 2 en el *conceptus* del cerdo, continúa una abundante producción de interferón γ (IFN- γ) y, en concentraciones menores, de un interferón de tipo I específico de la preñez, el interferón δ (IFN- δ) ⁽²⁴⁾. Numerosos estudios indican que estas citoquinas modulan la tolerancia inmune materna del *conceptus* implantado, los cambios en la arquitectura endometrial para la receptividad uterina y la remodelación vascular para el intercambio de nutrientes y desechos materno-fetales ^(24, 39, 40, 41, 42).

El IFN- γ es una citoquina proinflamatoria producida principalmente por linfocitos estimulados, en el caso de los cerdos también se sintetiza en las células del trofoblasto ⁽⁴³⁾. El IFN- γ se ha asociado con la muerte embrionaria y fetal en varias especies ⁽⁴⁴⁾. Sin embargo, también se ha demostrado que, al inicio de la gestación, es necesario para la implantación normal en humanos ⁽⁴⁵⁾ y que tiene una función angiogénica en la placenta porcina ⁽⁴⁶⁾.

El IFN- γ es el interferón dominante del *conceptus* de cerdo, representa el 75% de la actividad antiviral en lavados uterinos, en comparación con el IFN- δ (25% de actividad) ^(47, 48). Durante la implantación porcina, entre los días 12-20 de gestación, el trofoblasto secreta grandes

cantidades del IFN- γ hacia el lumen uterino ^(47, 48, 49, 50). La concentración de esta citoquina es elevada en la interfase materno-fetal a los 17 días de gestación y luego decae a lo largo de la gestación ⁽⁵¹⁾. Se postula que el IFN- γ podría permanecer en este compartimento y ser un efector directo de la despolarización de la membrana apical del epitelio endometrial. Esto daría como resultado la remodelación endometrial, condición necesaria para la implantación de los embriones ⁽⁴⁵⁾.

INTERLEUQUINA 6

La Interleuquina 6 (IL-6) es una citoquina que posee propiedades pro- y anti-inflamatorias y se sintetiza en respuesta a ciertos microorganismos y a otras citoquinas como la IL-1 β ⁽⁵²⁾. Diversos trabajos demuestran la importancia de esta citoquina durante la gestación en distintas especies. En el primer trimestre de la gestación la IL-6 estaría implicada en la remodelación de tejidos placentarios, así como en la hematopoyesis del *conceptus* y la vascularización de las vellosidades placentarias ⁽⁵³⁾.

En el cerdo, durante el periodo de implantación ha sido descrito un aumento de la expresión de ARNm de *IL-6* en el endometrio, entre los días 10 y 12 de gestación ⁽²⁴⁾. Además, durante dichos días de gestación, los receptores activados por proliferadores de peroxisomas β/δ (PPAR β/δ) pueden alterar la síntesis de la IL-6: el agonista de PPAR β/δ disminuye la expresión de la proteína IL-6 en los días 10 a 12 de gestación, mientras que el antagonista de PPAR β/δ aumenta la síntesis de la IL-6 en los días 14 a 16 ⁽¹³⁾.

Durante el período posterior a la implantación porcina, se ha observado que en los días 24-32, la expresión proteica de la IL-6 se incrementa en la placenta fetal ^(54, 55, 29), lo que se relaciona con un incremento de anticuerpos asimétricos que son esenciales para prevenir el rechazo inmune del feto ⁽⁹⁾. Por otra parte, esta expresión de la IL-6 se relaciona con altos niveles de estrógenos secretados en el mismo período ⁽⁵⁶⁾. Por otro lado, estudios realizados en otras especies demostraron un incremento de la IL-6 (transcripto y proteína) al momento del parto ^(58, 59). Este aumento, como en el caso de IL-1 β , podría estar implicado en la activación de una respuesta proinflamatoria necesaria para el parto.

FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), es un polipéptido pleiotrópico multifuncional ⁽⁶⁰⁾. Aunque el TNF- α se describió por primera vez como un producto de macrófagos estimulados por endotoxina ⁽⁶¹⁾,

puede ser sintetizado otros tipos de células ⁽⁶²⁾, incluidas las del sistema reproductor femenino ⁽⁶³⁾.

El TNF- α es una citoquina proinflamatoria que está presente en la interfaz feto-materna durante el establecimiento de la gestación en cerdos ^(24, 29). Esta citoquina se expresa en las etapas tempranas de la gestación porcina, teniendo un pico en su expresión en el día 15 de gestación ⁽⁶⁰⁾. Suzuki *et al.* ⁽⁶⁴⁾ encontraron que el TNF- α se expresa más en el día 17 de gestación en el cuerpo lúteo. En períodos tempranos, durante la implantación, el TNF- α es capaz de regular a otras moléculas. Por ejemplo, se ha descrito que esta citoquina regula la expresión de progesterona ^(65, 66) y de estrógenos ⁽⁶⁷⁾. También se ha encontrado que esta citoquina estaría involucrada en la diferenciación celular, remodelación tisular y apoptosis en esta primera fase de la gestación porcina ⁽⁶⁴⁾.

Hasta el momento, se desconoce el rol del TNF- α en la gestación tardía ⁽⁶⁸⁾, pero se sabe que una acción de esta citoquina es rechazar los tumores trasplantados ^(60, 69, 70). Existen similitudes entre embriones y tumores ya que ambos crecen muy rápidamente y expresan algunos antígenos comunes ^(60, 71). Además, se ha comprobado que esta molécula tiene un efecto perjudicial sobre el desarrollo embrionario en ratas, ratones y humanos ⁽⁶⁰⁾. Por estas razones, se entiende que la expresión del TNF- α podría ser baja o nula durante el resto de la preñez ⁽⁷²⁾.

INTERLEUQUINA 10

La Interleuquina 10 (IL-10) es una citoquina producida por el subgrupo Th2 de las células T helpers CD4+ ⁽⁷³⁾. También, es producida por algunas células B activadas, y por algunas células no linfocíticas como macrófagos activados, queratinocitos y trofoblastos ^(74, 75, 76). Dentro de las funciones que cumple la IL-10, se puede mencionar que inhibe la producción de citoquinas por los macrófagos (TNF- α , IL-1 β e IL-12) ^(77, 78, 79) y las funciones accesorias de los macrófagos en la activación de las células T ⁽⁷⁷⁾. Además, la IL-10 tiene acciones estimulantes sobre las células B ^(77, 79). Se ha demostrado que la IL-10 producida por una subpoblación de células B, las células B10 reguladoras, mantiene a las células dendríticas en un estado de inmadurez, inhibiendo su capacidad de presentar antígenos y la consiguiente activación de las células T ⁽⁸⁰⁾.

Recientemente, nuestro grupo de trabajo demostró que la expresión de la IL-10 es detectada en muestras de suero en los días 17, 60 y 114 de gestación porcina, con un pico de expresión en el día 114 ⁽⁵¹⁾. La expresión de la IL-10 en estos momentos podría indicar un rol inmunorregulador a nivel sistémico durante la gestación porcina. Más aún, la alta concentración de la IL-10 en suero en el período de

inicio de la remodelación uterina (día 60 de gestación) y en el parto, podría demostrar que en el cerdo esta citoquina se asocia con un efecto inhibitorio para prevenir un proceso de remodelación excesiva ⁽⁵¹⁾. Recientemente, otros autores mostraron en estos mismos periodos de la gestación la expresión del ARNm de *IL-10* ⁽⁷²⁾.

FACTOR INHIBIDOR DE LA LEUCEMIA

El factor inhibidor de la leucemia (LIF) es una citoquina pleiotrópica que se describió por primera vez como un estimulador de la diferenciación de la línea celular de leucemia mieloide M1 ^(81, 82). Esta citoquina exhibe una variedad de funciones dentro de las cuales se encuentran la proliferación, diferenciación y supervivencia celular que son importantes para el desarrollo y la implantación del embrión ^(83, 84). Sus diversos efectos se encuentran asociados con su receptor heterodimérico, LIFR (Receptor del Factor Inhibidor de la Leucemia) ^(84, 85). Se ha detectado una fuerte expresión de ARNm de *LIF* en el sitio de implantación en leucocitos deciduales, lo que sugiere que LIF puede mediar interacciones entre células trofoblásticas invasoras y leucocitos deciduales maternos en humanos ⁽⁸⁵⁾. Además, LIF, como la IL-6, participa en el funcionamiento endometrial ⁽⁸⁶⁾ y estimula la unión y proliferación de las células trofoblásticas ⁽⁸²⁾.

En la especie porcina, la citoquina LIF es secretada por el *conceptus* y el endometrio entre los días 10 y 14 de gestación de la cerda, por lo que se considera que tiene un papel crucial durante la implantación ^(86, 82, 24). Además, Yoo *et al.* ⁽⁸⁷⁾ demostraron que la expresión del LIF aumentó en el endometrio durante la fase tardía del diestro del ciclo estral y durante la mitad y el final de la preñez, mientras que la expresión del LIFR aumentó durante la primera etapa de la gestación.

Al igual que la IL-6, la expresión del LIF está controlada por la IL-1 y estrógenos. Por ejemplo, la expresión de estrógenos en ratones aumenta la expresión del LIF endometrial durante la implantación ⁽⁸⁸⁾. Según lo descrito por Blitek *et al.* ⁽⁸²⁾, las concentraciones máximas de la proteína LIF se detectan en lavados uterinos de cerdos el día 12 de gestación y se asocian, temporalmente, con la expresión de *IL-1β2*, por parte del *conceptus*, y la síntesis de estrógenos durante el reconocimiento materno de la preñez. Al igual que en la regulación de la IL-6, los PPAR β/δ pueden alterar la expresión del LIF. El tratamiento tisular con un agonista de PPAR β/δ induce un incremento de la expresión de ARNm de *LIF* en el endometrio porcino durante los días 10-12 y 14-16 de gestación sugiriendo una regulación de esta citoquina mediada por dicho receptor ⁽¹³⁾.

INTERLEUQUINA 2

La interleuquina 2 (IL-2) es una citoquina con un rol muy importante en la regulación y homeostasis del sistema inmune. Es producida por células Th1 y actúa a través del receptor de IL-2, induce la expansión clonal de linfocitos T activados y estimula la producción de células NK.

En muestras de placenta humana, la IL-2 no se detecta en la implantación ^(89, 90). Más aún, estudios demuestran que mujeres cuyas concepciones terminan en aborto tienen niveles significativamente altos de IL-2 en suero y endometrio ^(91, 92). También está demostrado que mujeres con concentraciones séricas elevadas de IL-2 durante el primer trimestre del embarazo tienen altas posibilidades de desarrollar preeclampsia ⁽⁹³⁾.

En estudios en gestación porcina, IL-2 se caracterizó como una potente activadora del factor de crecimiento de células T e inductora de la proliferación de células NK aumentando su capacidad citolítica ^(94, 95). Contrariamente a lo que ocurre en placenta humana, la IL-2 se expresa a los 30 y a los 70 días de la gestación porcina ⁽³³⁾. Este hallazgo apoya la hipótesis de que a los 30 días debe generarse un ambiente proinflamatorio local controlado en la interfase feto-materna de la cerda, necesario para una remodelación del mismo. Esto coincide con una etapa de gran desarrollo de las vellosidades placentarias y con el comienzo de la osificación embrionaria ⁽⁹⁶⁾. El segundo pico de expresión de IL-2, a los 70 días, coincide con el período de 60-70 días de gestación en el cual se alcanza el mayor crecimiento placentario y comienza un estado de meseta en su desarrollo en el cual el feto crece de manera exponencial. Por otro lado, a nivel sérico, la IL-2 se expresa a lo largo de la gestación porcina pero en niveles bajos comparados con los placentarios, a excepción del último periodo en el cual ocurre un pico de expresión sérica ⁽³³⁾. Se ha reportado que los altos niveles séricos de esta citoquina a los 114 días de gestación pueden ser necesarios para generar los eventos moleculares que desencadenan el parto y la expulsión de la placenta.

INTERLEUQUINA 4

La Interleuquina 4 (IL-4) es una citoquina que participa en la regulación del sistema inmunitario de diversas maneras. Es un potente inhibidor de los linfocitos Th1, ya que previene la liberación de citoquinas proinflamatorias por monocitos activados y se comporta como un regulador de linfocitos citotóxicos CD8 ⁽⁹⁷⁾. También promueve la

diferenciación de linfocitos Th2 y la proliferación y diferenciación de linfocitos B.

Se ha demostrado que la IL-4 es una importante citoquina detectada en placenta en humanos y es beneficiosa para el crecimiento placentario⁽⁹⁸⁾. Las citoquinas asociadas con una respuesta Th2, como IL-4, contribuyen a la implantación del embrión, el desarrollo placentario y la supervivencia del feto hasta el final de la gestación en humanos y ratones. En humanos, se ha afirmado que en la mayor parte de una gestación normal hay un predominio de citoquinas Th2 sobre Th1, para crear un cierto grado de inmunosupresión celular, que permite un correcto desarrollo feto-placentario^(99,100,33). En cerdos, la IL-4 está presente en la interfaz feto-materno placentaria durante la preñez⁽³³⁾. Los niveles de IL-4 en placenta materna son bajos y constantes durante toda la preñez, pero en placenta fetal los niveles de expresión de la citoquina son altos, especialmente a los 30 y 70 días de gestación.

Por otro lado, los resultados encontrados por diferentes autores sobre la concentración de IL-4 en sangre periférica de mujeres embarazadas son variables. Hanna *et al.*⁽⁷³⁾ demostraron que las concentraciones séricas de IL-4 durante el embarazo son equivalentes a las de las mujeres no embarazadas. Contrariamente a este resultado, Saito *et al.*⁽⁹⁹⁾ y Wegmann *et al.*⁽¹⁰¹⁾ demostraron que la IL-4 es elevada en el suero de mujeres con embarazo normal durante el segundo y tercer trimestre. En cerdos también se muestran aumentos en los niveles séricos de IL-4 durante la preñez, principalmente a los 30 y 70 días, con un pico máximo de expresión en el período a término⁽³³⁾. Estos picos de concentración coinciden con los niveles de expresión de la citoquina hallados en placenta y estarían relacionados con la regulación de la mayor remodelación placentaria y la formación del ambiente proinflamatorio mencionado previamente. Su elevada concentración en el suero de las hembras con gestación a término también puede ser necesaria para regular la respuesta inmune Th1 en el momento del parto, como proponen Hanna *et al.*⁽⁷³⁾ en su investigación.

Conclusión

En las primeras etapas de la gestación, el blastocisto inicia un diálogo con el endometrio de manera de obtener su receptividad. Esta comunicación cruzada involucra la generación de una respuesta inmune de tipo inflamatoria, que resulta en la implantación y la generación de la placenta. El período de gestación tardía cumple con etapas cruciales, como lo son la osificación, el desarrollo del sistema inmunológico y el crecimiento del feto, entre otros. La placenta es un órgano transitorio integrado por estructuras de origen fetal y materno. Numerosas

moléculas están involucradas en el mantenimiento de la arquitectura placentaria y de una exitosa placentación. Estas moléculas que incluyen a las citoquinas no sólo se expresan y circulan a nivel local sino también lo hacen a nivel sérico a lo largo de todo el período de gestación en la madre.

El objetivo de este trabajo fue realizar una revisión bibliográfica actualizada de las principales citoquinas involucradas en la gestación porcina. Se describió la expresión en los distintos períodos de gestación de IL-1 β , IFN- γ , IFN- δ , IL-6, TNF- α , IL-10, LIF, IL-2, e IL-4. Resulta evidente que la expresión diferencial de las citoquinas mencionadas en las distintas etapas de la gestación tanto a niveles locales placentarios como a niveles séricos de la cerda es fundamental en la formación de un ambiente inflamatorio regulado, necesario para una exitosa gestación.

Bibliografía

1. Bazer FW, Johnson GA. Pig blastocyst-uterine interactions. *Differentiation*. 2014 Jan;87(1-2):52–65.
2. Pope W. Embrionic mortality in swine. In: Zavy M. T. GRD, editor. *Embrionic mortality in domestic species*. Boca Ratón, FL, Estados Unidos; 1994. p. 53–77.
3. Williamson DM. Estudio de la presencia de integrinas, y su relación con los niveles de esteroides e interleuquinas, durante la placentación porcina [Doctor en Ciencias Veterinarias]. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de la Plata; 2011.
4. Vélez CL. Integrinas y su regulación por el sistema inmune durante la gestación porcina [Doctor en Ciencias Veterinarias]. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de la Plata; 2017.
5. Wilson ME, Sonstegard TS, Smith TPL, Fahrenkrug SC, Ford SP. Differential gene expression during elongation in the preimplantation pig embryo [Internet]. Vol. 26, *genesis*. 2000. p. 9–14. Available from: [http://dx.doi.org/10.1002/\(sici\)1526-968x\(200001\)26:1<9::aid-gene4>3.0.co;2-1](http://dx.doi.org/10.1002/(sici)1526-968x(200001)26:1<9::aid-gene4>3.0.co;2-1).
6. Bazer FW, Thatcher WW. Theory of maternal recognition of pregnancy in swine based on estrogen controlled endocrine versus exocrine secretion of prostaglandin F2alpha by the uterine endometrium. *Prostaglandins*. 1977 Aug;14(2):397–400.
7. Spencer, T. E., Bazer, F. W. Uterine and placental factors regulating conceptus growth in domestic animals. *J Anim Sci*. 2004;82:4–13.
8. Spencer, T. E., Bazer, F. W. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Reprod Biol Endocrinol*. 2004;2:49.
9. Pacheco J. Inmunología de la implantación. *Ginecología y Obstetricia de México*. 1999;45(1):14–22.
10. Garro A. Estudio de la respuesta inmune humoral en la gestación porcina [Doctor en Ciencias Veterinarias]. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata; 2015.
11. Williamson D.M., Yaful G.N., Riesco O.F., Koncurat M.A. Progesterona, estrógenos y expresión de integrinas en la gestación temprana porcina. *Ciencia Veterinaria*. 2008;10(1):13–23.
12. Curtis H., Barnes N.S., Schnek A., Massarini A. La respuesta inmunitaria. In: Schnek A. MA, editor. *Biología*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2008. p. 754–81.
13. Kunicka Z, Kurzyńska A, Szydłowska A, Kaczyńska B, Bogacka I. PPAR β/δ ligands regulate the expression of immune response mediators in the porcine endometrium - An in vitro study. *Theriogenology*. 2019 Aug;134:112–20.
14. Geisert RD, Lucy MC, Whyte JJ, Ross JW, Mathew DJ. Cytokines from the pig conceptus: roles in conceptus development in pigs. *J Anim Sci Biotechnol*. 2014 Nov 7;5(1):51.
15. Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*. 2011 Apr 7;117(14):3720–32.

16. Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A. The Interleukin-1 Family: Back to the Future [Internet]. Vol. 39, *Immunity*. 2013. p. 1003–18. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2013.11.010>
17. Martinon F, Burns K, Tschopp J. The Inflammasome [Internet]. Vol. 10, *Molecular Cell*. 2002. p. 417–26. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s1097-2765\(02\)00599-3](http://dx.doi.org/10.1016/s1097-2765(02)00599-3)
18. Casadio R, Frigimelica E, Bossù P, Neumann D, Martin MU, Tagliabue A, et al. Model of interaction of the IL-1 receptor accessory protein IL-1RAcP with the IL-1beta/IL-1R(I) complex. *FEBS Lett*. 2001 Jun 15;499(1-2):65–8.
19. Walsh MC, Kim GK, Maurizio PL, Molnar EE, Choi Y. TRAF6 autoubiquitination-independent activation of the NFkappaB and MAPK pathways in response to IL-1 and RANKL. *PLoS One*. 2008 Dec 29;3(12):e4064.
20. Takaesu G, Ninomiya-Tsuji J, Kishida S, Li X, Stark GR, Matsumoto K. Interleukin-1 (IL-1) receptor-associated kinase leads to activation of TAK1 by inducing TAB2 translocation in the IL-1 signaling pathway. *Mol Cell Biol*. 2001 Apr;21(7):2475–84.
21. Geisert R, Fazleabas A, Lucy M, Mathew D. Interaction of the conceptus and endometrium to establish pregnancy in mammals: role of interleukin 1β. *Cell Tissue Res*. 2012 Sep;349(3):825–38.
22. Mathew DJ, Newsom EM, Guyton JM, Tuggle CK, Geisert RD, Lucy MC. Activation of the transcription factor nuclear factor-kappa B in uterine luminal epithelial cells by interleukin 1 Beta 2: a novel interleukin 1 expressed by the elongating pig conceptus. *Biol Reprod*. 2015 Apr;92(4):107.
23. Groenen MAM, Archibald AL, Uenishi H, Tuggle CK, Takeuchi Y, Rothschild MF, et al. Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution. *Nature*. 2012 Nov 15;491(7424):393–8.
24. Mathew DJ, Lucy MC, D Geisert R. Interleukins, interferons, and establishment of pregnancy in pigs. *Reproduction*. 2016 Jun;151(6):R111–22.
25. Whyte JJ, Meyer AE, Spate LD, Benne JA, Cecil R, Samuel MS, et al. Inactivation of porcine interleukin-1β results in failure of rapid conceptus elongation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018 Jan 9;115(2):307–12.
26. Tuo W, Harney JP, Bazer FW. Developmentally regulated expression of interleukin-1 beta by peri-implantation conceptuses in swine. *J Reprod Immunol*. 1996 Oct;31(3):185–98.
27. Ross JW, Ashworth MD, Hurst AG, Malayer JR, Geisert RD. Analysis and characterization of differential gene expression during rapid trophoblastic elongation in the pig using suppression subtractive hybridization. *Reprod Biol Endocrinol*. 2003 Feb 14;1:23.
28. Ross JW, Malayer JR, Ritchey JW, Geisert RD. Characterization of the interleukin-1beta system during porcine trophoblastic elongation and early placental attachment. *Biol Reprod*. 2003 Oct;69(4):1251–9.
29. Martinez CA, Rubér M, Rodriguez-Martinez H, Alvarez-Rodriguez M. Pig Pregnancies after Transfer of Allogeneic Embryos Show a Dysregulated Endometrial/Placental Cytokine Balance: A Novel Clue for Embryo Death? *Biomolecules* [Internet]. 2020 Apr 5;10(4). Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/biom10040554>

-
30. Geisert RD, Johnson GA, Burghardt RC. Implantation and Establishment of Pregnancy in the Pig. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 2015;216:137–63.
 31. Librach CL, Feigenbaum SL, Bass KE, Cui TY, Verastas N, Sadovsky Y, et al. Interleukin-1 beta regulates human cytotrophoblast metalloproteinase activity and invasion in vitro. *J Biol Chem.* 1994 Jun 24;269(25):17125–31.
 32. Vélez C, Barbeito C, Koncurat M. $\alpha\beta 3$ Integrin and fibronectin expressions and their relation to estrogen and progesterone during placentation in swine. *Biotech Histochem.* 2018;93(1):15–24.
 33. Vélez C, Clazure M, Williamson D, Koncurat MA, Santa-Coloma TA, Barbeito C. IL-1 β , IL-2 and IL-4 concentration during porcine gestation [Internet]. Vol. 128, *Theriogenology.* 2019. p. 133–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.01.017>
 34. Winkler M, Fischer DC, Ruck P, Marx T, Kaiserling E, Oberpichler A, et al. Parturition at term: parallel increases in interleukin-8 and proteinase concentrations and neutrophil count in the lower uterine segment. *Hum Reprod.* 1999 Apr;14(4):1096–100.
 35. Winkler M, Oberpichler A, Tschesche H, Ruck P, Fischer DC, Rath W. Collagenolysis in the lower uterine segment during parturition at term: correlations with stage of cervical dilatation and duration of labor. *Am J Obstet Gynecol.* 1999 Jul;181(1):153–8.
 36. van Engelen E, de Groot MW, Breeveld-Dwarkasing VNA, Everts ME, van der Weyden GC, Taverne MAM, et al. Cervical ripening and parturition in cows are driven by a cascade of pro-inflammatory cytokines. *Reprod Domest Anim.* 2009 Oct;44(5):834–41.
 37. Young A, Thomson AJ, Ledingham M, Jordan F, Greer IA, Norman JE. Immunolocalization of proinflammatory cytokines in myometrium, cervix, and fetal membranes during human parturition at term. *Biol Reprod.* 2002 Feb;66(2):445–9.
 38. Sennström MB, Ekman G, Westergren-Thorsson G, Malmström A, Byström B, Endrén U, et al. Human cervical ripening, an inflammatory process mediated by cytokines. *Mol Hum Reprod.* 2000 Apr;6(4):375–81.
 39. Joyce MM, Burghardt JR, Burghardt RC, Hooper RN, Bazer FW, Johnson GA. Uterine MHC class I molecules and beta 2-microglobulin are regulated by progesterone and conceptus interferons during pig pregnancy. *J Immunol.* 2008 Aug 15;181(4):2494–505.
 40. Cencic A, Guillomot M, Koren S, La Bonnardièrre C. Trophoblastic interferons: do they modulate uterine cellular markers at the time of conceptus attachment in the pig? *Placenta.* 2003 Sep;24(8-9):862–9.
 41. Kim M, Seo H, Choi Y, Shim J, Bazer FW, Ka H. Swine leukocyte antigen-DQ expression and its regulation by interferon-gamma at the maternal-fetal interface in pigs. *Biol Reprod.* 2012 Feb;86(2):43.
 42. D'andr ea S, La Bonnardièrre C. Cloning of the porcine interferon- γ receptor and its foeto-endometrial expression in early pregnancy [Internet]. Vol. 51, *Molecular Reproduction and Development.* 1998. p. 225–34. Available from: [http://dx.doi.org/10.1002/\(sici\)1098-2795\(199811\)51:3<225::aid-mrd1>3.0.co;2-r](http://dx.doi.org/10.1002/(sici)1098-2795(199811)51:3<225::aid-mrd1>3.0.co;2-r)
 43. Tayade C, Black GP, Fang Y, Croy BA. Differential gene expression in endometrium, endometrial lymphocytes, and trophoblasts during successful and abortive embryo implantation. *J Immunol.* 2006 Jan 1;176(1):148–56.

44. Casazza RL, Lazear HM. Why Is IFN- λ Less Inflammatory? One IRF Decides. *Immunity*. 2019 Sep 17;51(3):415–7.
45. Murphy SP, Tayade C, Ashkar AA, Hatta K, Zhang J, Croy BA. Interferon gamma in successful pregnancies. *Biol Reprod*. 2009 May;80(5):848–59.
46. Tayade C, Fang Y, Hilchie D, Croy BA. Lymphocyte contributions to altered endometrial angiogenesis during early and midgestation fetal loss. *J Leukoc Biol*. 2007 Oct;82(4):877–86.
47. Lefèvre F, Martinat-Botté F, Locatelli A, De Niu P, Terqui M, La Bonnardière C. Intrauterine infusion of high doses of pig trophoblast interferons has no antiluteolytic effect in cyclic gilts. *Biol Reprod*. 1998 Apr;58(4):1026–31.
48. Joyce MM, Burghardt RC, Geisert RD, Burghardt JR, Neil Hooper R, Ross JW, et al. Pig Conceptuses Secrete Estrogen and Interferons to Differentially Regulate Uterine STAT1 in a Temporal and Cell Type-Specific Manner [Internet]. Vol. 148, *Endocrinology*. 2007. p. 4420–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1210/en.2007-0505>
49. Koncurat M.A., Greco C., Vivas A. IFN-g concentration in serum and porcine placental extracts from different gestation ages. *Biocell*. 2001;25(3):23.
50. Linton NF, Wessels JM, Cnossen SA, van den Heuvel MJ, Croy BA, Tayade C. Angiogenic DC-SIGN(+) cells are present at the attachment sites of epitheliochorial placentae. *Immunol Cell Biol*. 2010 Jan;88(1):63–71.
51. Vélez CL, Williamson D, Clazure M, Koncurat M, Barbeito C. INF γ and IL-10 seric and placental profile during porcine gestation. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. Aceptado para su publicación 24/07/2020
52. Clazure M, Valdivieso ÁG, Massip-Copiz MM, Mori C, Dugour AV, Figueroa JM, et al. Intracellular Chloride Concentration Changes Modulate IL-1 β Expression and Secretion in Human Bronchial Epithelial Cultured Cells. *J Cell Biochem*. 2017 Aug;118(8):2131–40.
53. Gutiérrez G., Dubinsky V., Pasqualini R.S., Gentile M.T. El rol de la interleuquina 6 en el éxito gestacional. *SAEGRE*. 2008;15:43–7.
54. Koncurat M.A., Riesco O.F., Williamson D.M. Determinación de IL-6, progesterona y estrógenos en la preñez porcina temprana. In: *Memorias XXVII Jornadas científicas*. Asociación de biología de Tucumán; 2010. p. 145.
55. Williamson D.M., Riesco O.F., Vélez C.L., Koncurat M.A. Determinación de la concentración de IFN- γ , IL-6, IL-12, IL-15 e IL-18 en suero, extractos placentarios maternos y fetales a través de la gestación porcina. *Ciencia Veterinaria*. 2011;13(1):31–41.
56. Yafu G. KMA. Concentración de progesterona en placenta materna, fetal y líquido amniótico durante la gestación porcina. *ALPA*. 2005;13:136–7.
57. Girasole G, Jilka RL, Passeri G, Boswell S, Boder G, Williams DC, et al. 17 beta-estradiol inhibits interleukin-6 production by bone marrow-derived stromal cells and osteoblasts in vitro: a potential mechanism for the antiosteoporotic effect of estrogens. *J Clin Invest*. 1992 Mar;89(3):883–91.
58. Agarwal R, Loganath A, Roy A, Wong Y, Lindoff C, Ng S. Increased Expression of Interleukin-6 in Term Compared to the First Trimester Human Placental Villi [Internet]. Vol. 32, *Hormone and Metabolic Research*. 2000. p. 164–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1055/s-2007-978615>

-
59. Robertson SA, Christiaens I, Dorian CL, Zaragoza DB, Care AS, Banks AM, et al. Interleukin-6 is an essential determinant of on-time parturition in the mouse. *Endocrinology*. 2010 Aug;151(8):3996–4006.
 60. Yu Z, Gordon JR, Kendall J, Thacker PA. Elevation in tumour necrosis factor- α (TNF- α) messenger RNA levels in the uterus of pregnant gilts after oestrogen treatment [Internet]. Vol. 50, *Animal Reproduction Science*. 1998. p. 57–67. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4320\(97\)00081-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-4320(97)00081-x)
 61. Beutler B, Mahoney J, Le Trang N, Pekala P, Cerami A. Purification of cachectin, a lipoprotein lipase-suppressing hormone secreted by endotoxin-induced RAW 264.7 cells [Internet]. Vol. 161, *Journal of Experimental Medicine*. 1985. p. 984–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1084/jem.161.5.984>
 62. Giroir BP, Johnson JH, Brown T, Allen GL, Beutler B. The tissue distribution of tumor necrosis factor biosynthesis during endotoxemia. *J Clin Invest*. 1992 Sep;90(3):693–8.
 63. Hunt JS, Chen H-L, Miller L. Tumor Necrosis Factors: Pivotal Components of Pregnancy?1 [Internet]. Vol. 54, *Biology of Reproduction*. 1996. p. 554–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod54.3.554>
 64. Suzuki C, Yoshioka K, Yamada M, Miyamoto T, Manabe N. Expressions of tumor necrosis factor- α , its receptor I, II and receptor-associated factor 2 in the porcine corpus luteum during the estrous cycle and early pregnancy. *Vet Res Commun*. 2014 Mar;38(1):1–10.
 65. Jana B, Koszykowska M, Andronowska A. The effect of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-1 β and IL-6 on prostaglandins (PG)F $_2\alpha$ and E2 secretion from maternal placenta in pigs. *Pol J Vet Sci*. 2008;11(4):315–22.
 66. Jana B, Kozłowska A, Andronowska A, Jedlińska-Krakowska M. The effect of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-1 β and IL-6 on chorioamnion secretion of prostaglandins (PG)F 2 α and E2 in pigs. *Reprod Biol*. 2008 Mar;8(1):57–68.
 67. Franczak A, Wojciechowicz B, Kolakowska J, Kotwica G. The effect of interleukin-1 β , interleukin-6, and tumor necrosis factor- α on estradiol-17 β release in the myometrium: The in vitro study on the pig model [Internet]. Vol. 81, *Theriogenology*. 2014. p. 266–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.024>
 68. Kridli RT, Khalaj K, Bidarimath M, Tayade C. Placentation, maternal-fetal interface, and conceptus loss in swine. *Theriogenology*. 2016 Jan 1;85(1):135–44.
 69. Fiers W. Tumor necrosis factor: Characterization at the molecular, cellular and in vivo level. *FEBS Lett*. 1991 Jul 22;285(2):199–212.
 70. Vassalli P. The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu Rev Immunol*. 1992;10:411–52.
 71. Allison AC. Antigens shared by tumour cells and fetal or gonadal cells. In: Scott JS, Bird HER, editors. *Pregnancy Autoimmunity and Tissue Disorders*. Oxford, UK: Oxford University Press; 1990. p. 19–41.
 72. Zhou Y, Xu T, Wu Y, Wei H, Peng J. Oxidative Stress and Inflammation in Sows with Excess Backfat: Up-Regulated Cytokine Expression and Elevated Oxidative Stress Biomarkers in Placenta. *Animals (Basel)* [Internet]. 2019 Oct 14;9(10). Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/ani9100796>

73. Hanna N, Hanna I, Hleb M, Wagner E, Dougherty J, Balkundi D, et al. Gestational age-dependent expression of IL-10 and its receptor in human placental tissues and isolated cytotrophoblasts. *J Immunol.* 2000 Jun 1;164(11):5721–8.
74. Roth I, Corry DB, Locksley RM, Abrams JS, Litton MJ, Fisher SJ. Human placental cytotrophoblasts produce the immunosuppressive cytokine interleukin 10. *J Exp Med.* 1996 Aug 1;184(2):539–48.
75. DiLillo DJ, Matsushita T, Tedder TF. B10 cells and regulatory B cells balance immune responses during inflammation, autoimmunity, and cancer. *Ann N Y Acad Sci.* 2010 Jan;1183:38–57.
76. Bommer I, Muzzio DO, Zygmunt M, Jensen F. Progesterone and estradiol exert an inhibitory effect on the production of anti-inflammatory cytokine IL-10 by activated MZ B cells. *J Reprod Immunol.* 2016 Aug;116:113–6.
77. Walter MR. Interleukin-10 in Health and Disease. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2014;380:1–21.
78. Chang WLW, Baumgarth N, Yu D, Barry PA. Human cytomegalovirus-encoded interleukin-10 homolog inhibits maturation of dendritic cells and alters their functionality. *J Virol.* 2004 Aug;78(16):8720–31.
79. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the Interleukin-10 Receptor [Internet]. Vol. 19, *Annual Review of Immunology.* 2001. p. 683–765. Available from: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.683>
80. Jensen F, Muzzio D, Soldati R, Fest S, Zenclussen AC. Regulatory B10 Cells Restore Pregnancy Tolerance in a Mouse Model [Internet]. Vol. 89, *Biology of Reproduction.* 2013. Available from: <http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod.113.110791>
81. Hilton DJ, Nicola NA, Gough NM, Metcalf D. Resolution and purification of three distinct factors produced by Krebs ascites cells which have differentiation-inducing activity on murine myeloid leukemic cell lines. *J Biol Chem.* 1988 Jul 5;263(19):9238–43.
82. Blitek A, Morawska E, Ziecik AJ. Regulation of expression and role of leukemia inhibitory factor and interleukin-6 in the uterus of early pregnant pigs. *Theriogenology.* 2012 Sep 15;78(5):951–64.
83. Vogiagis D, Salamonsen LA. Review: The role of leukaemia inhibitory factor in the establishment of pregnancy. *J Endocrinol.* 1999 Feb;160(2):181–90.
84. Goryszewska E, Kaczynski P, Baryla M, Waclawik A. Pleiotropic role of prokineticin 1 in the porcine endometrium during pregnancy establishment and embryo implantation †. *Biol Reprod.* 2021 Jan 4;104(1):181–96.
85. Dimitriadis E, White CA, Jones RL, Salamonsen LA. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation. *Hum Reprod Update.* 2005 Nov;11(6):613–30.
86. Modrić T, Kowalski AA, Green ML, Simmen RCM, Simmen FA. Pregnancy-dependent Expression of Leukaemia Inhibitory Factor (LIF), LIF Receptor-β and Interleukin-6 (IL-6) Messenger Ribonucleic Acids in the Porcine Female Reproductive Tract [Internet]. Vol. 21, *Placenta.* 2000. p. 345–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/plac.1999.0493>
87. Yoo I, Chae S, Han J, Lee S, Kim HJ, Ka H. Leukemia inhibitory factor and its receptor: expression and regulation in the porcine endometrium throughout the estrous cycle and pregnancy. *Asian-australas J Anim Sci.* 2019 Feb;32(2):192–200.

-
88. Chen J.R., Cheng J.G., Shatzer T, Sewell L., Hernandez L. & Stewart C.L. Leukemia inhibitory factor can substitute for nidatory estrogen and is essential to inducing a receptive uterus for implantation but is not essential for subsequent embryogenesis. *Endocrinology*. 2000;141:4365–72.
 89. Verma S, Hiby SE, Loke YW, King A. Human Decidual Natural Killer Cells Express the Receptor for and Respond to the Cytokine Interleukin 151 [Internet]. Vol. 62, *Biology of Reproduction*. 2000. p. 959–68. Available from: <http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod62.4.959>
 90. Ibrahim T, Przybyl L, Harmon AC, Amaral LM, Faulkner JL, Cornelius DC, et al. Proliferation of endogenous regulatory T cells improve the pathophysiology associated with placental ischaemia of pregnancy. *Am J Reprod Immunol* [Internet]. 2017 Nov;78(5). Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/aji.12724>
 91. Marzi M, Vigano A, Trabattoni D, Villa ML, Salvaggio A, Clerici E, et al. Characterization of type 1 and type 2 cytokine production profile in physiologic and pathologic human pregnancy. *Clin Exp Immunol*. 1996 Oct;106(1):127–33.
 92. Lim KJ, Odukoya OA, Ajjan RA, Li TC, Weetman AP, Cooke ID. The role of T-helper cytokines in human reproduction. *Fertil Steril*. 2000 Jan;73(1):136–42.
 93. Hamai Y, Fujii T, Yamashita T, Nishina H, Kozuma S, Mikami Y, et al. Evidence for an elevation in serum interleukin-2 and tumor necrosis factor-alpha levels before the clinical manifestations of preeclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 1997 Aug;38(2):89–93.
 94. Yu Z, Anne Croy B, King GJ. Lysis of Porcine Trophoblast Cells by Endometrial Natural Killer-Like Effector Cells in Vitro does not Require Interleukin-21 [Internet]. Vol. 51, *Biology of Reproduction*. 1994. p. 1279–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod51.6.1279>
 95. Saito S, Nakashima A, Myojo-Higuma S, Shiozaki A. The balance between cytotoxic NK cells and regulatory NK cells in human pregnancy. *J Reprod Immunol*. 2008 Jan;77(1):14–22.
 96. Cristofolini A, Sanchis G, Moliva M, Alonso L, Chanique A, Koncurat M, et al. Cellular remodelling by apoptosis during porcine placentation. *Reprod Domest Anim*. 2013 Aug;48(4):584–90.
 97. Kalish RB, Vardhana S, Gupta M, Perni SC, Witkin SS. Interleukin-4 and -10 gene polymorphisms and spontaneous preterm birth in multifetal gestations. *Am J Obstet Gynecol*. 2004 Mar;190(3):702–6.
 98. Deng S, Qiu K, Tu R, Zheng H, Lu W. Relationship Between Pregnancy and Acute Disseminated Encephalomyelitis: A Single-Case Study. *Front Immunol*. 2020; 11:609476.
 99. Saito S, Sakai M, Sasaki Y, Tanebe K, Tsuda H, Michimata T. Quantitative analysis of peripheral blood Th0, Th1, Th2 and the Th1:Th2 cell ratio during normal human pregnancy and preeclampsia. *Clin Exp Immunol*. 1999 Sep;117(3):550–5.
 100. Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. Th1/Th2/Th17 and regulatory T-cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 2010 Jun;63(6):601–10.
 101. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? [Internet]. Vol. 14, *Immunology Today*. 1993. p. 353–6. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/0167-5699\(93\)90235-d](http://dx.doi.org/10.1016/0167-5699(93)90235-d).