



Università
degli Studi
di Ferrara

Facoltà di Medicina,
Farmacia
e Prevenzione

Corso di laurea in Scienze Biologiche
Corso di laurea magistrale in Scienze Biomolecolari e dell'Evoluzione

Materiale didattico di supporto

Tutto il materiale fornito a supporto delle lezioni e reperibile nel minisito dell'insegnamento o sulla piattaforma online UniFE deve essere inteso come traccia degli argomenti svolti e non sostituisce il libro di testo.

Raccomandazione importante: questo materiale didattico è per uso personale dello studente, ed è coperto da copyright. Ne è severamente vietata la riproduzione, la diffusione o il riutilizzo, anche parziale, ai sensi e per gli effetti della legge sul diritto d'autore.

LA GASTRULAZIONE DEGLI AMNIOTI

non-mammiferi

LA FORMAZIONE DELLA STRIA PRIMITIVA

Ispessimento iniziale dell'epiblasto, a livello della falce di Koller

Accumulo di cellule fra epiblasto e ipoblasto

Estensione convergente, che permette alla stria primitiva di allungarsi in senso caudale-cefalico e di restringersi in larghezza

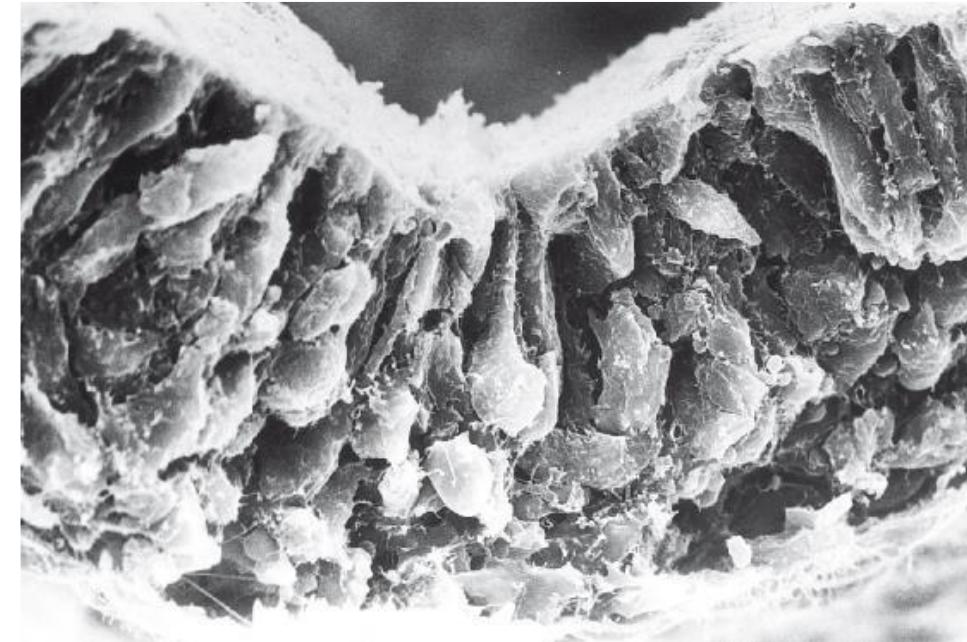
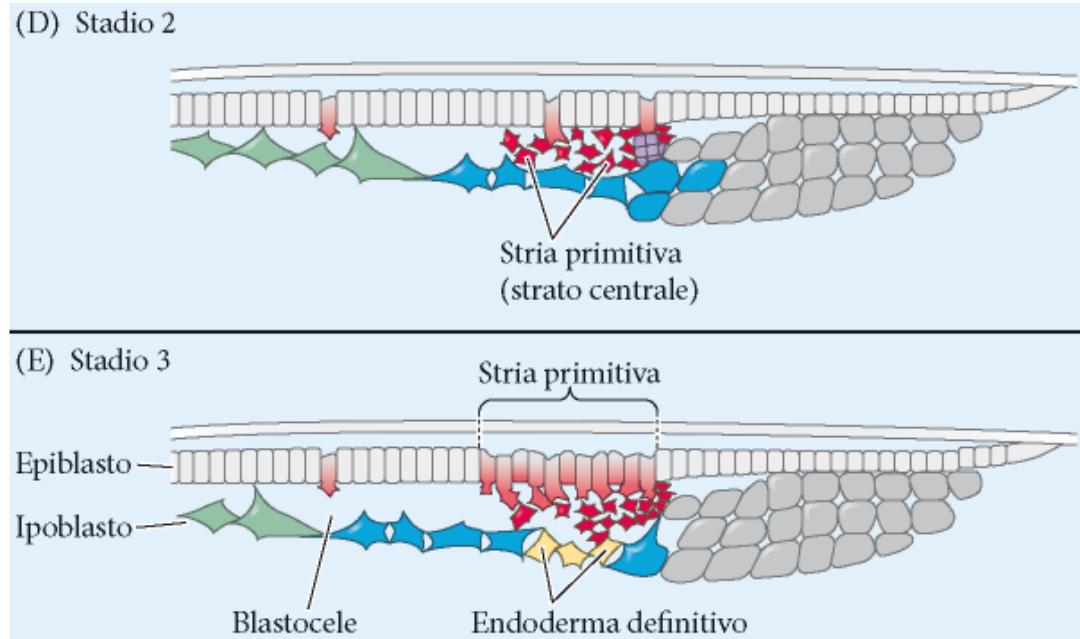
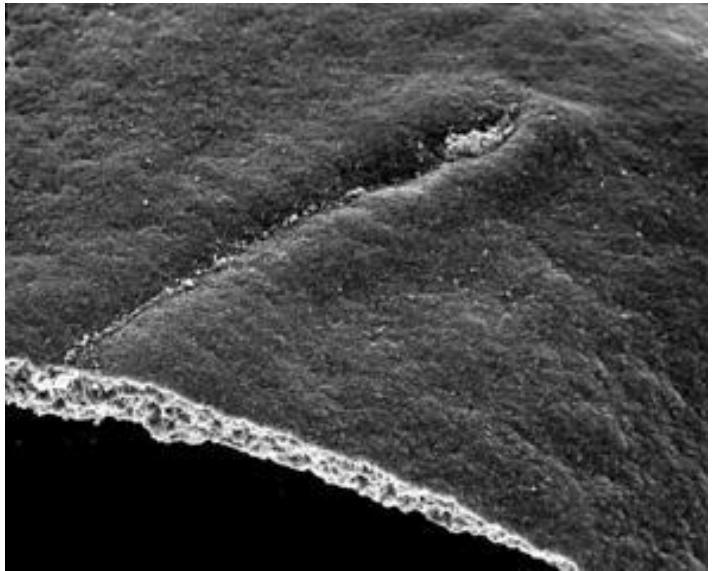


Foto SEM della regione della stria primitiva di un embrione in gastrulazione. Le cellule dell'epiblasto destinate ad entrare nel blastocoel assumono la forma **a bottiglia**.

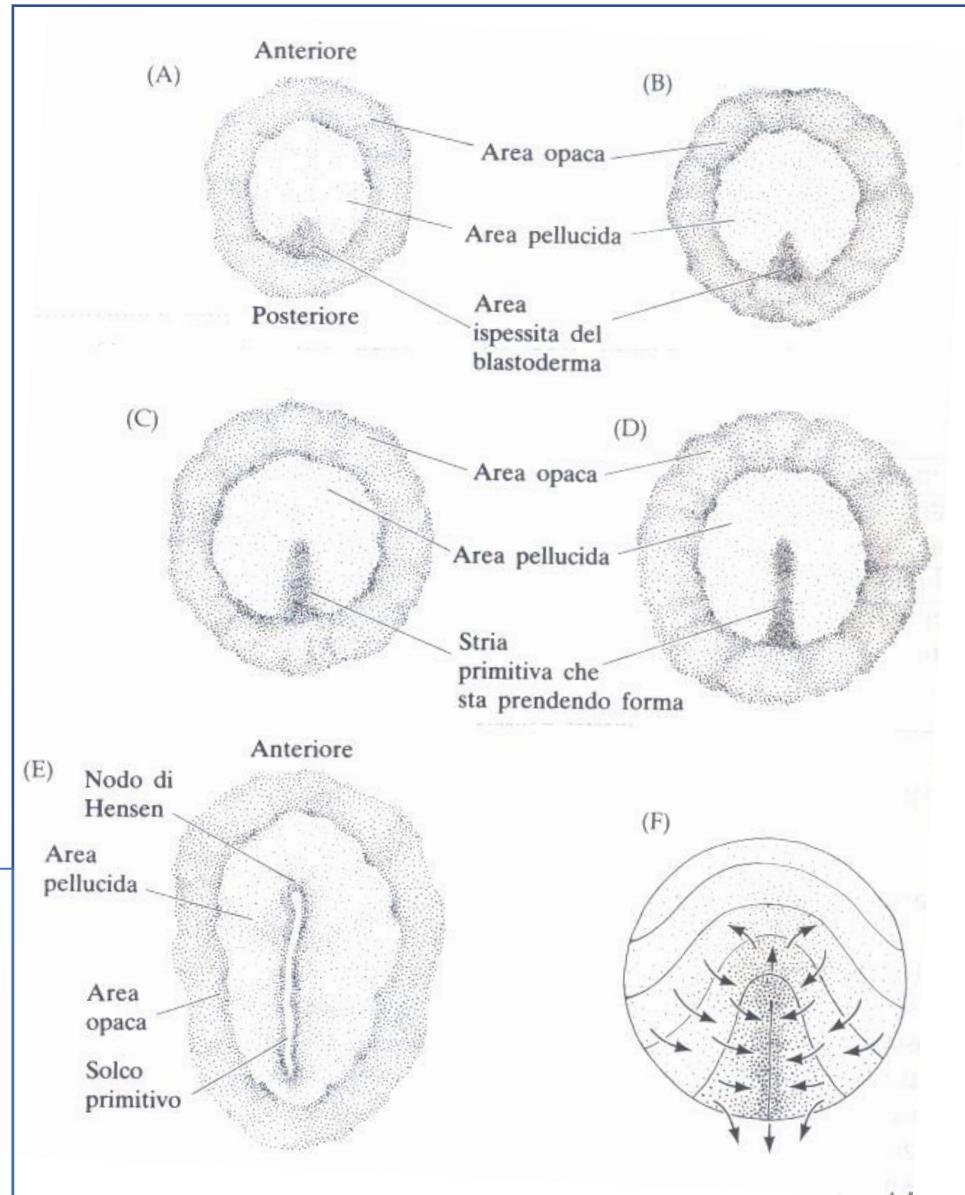


LA FORMAZIONE DELLA STRIA PRIMITIVA

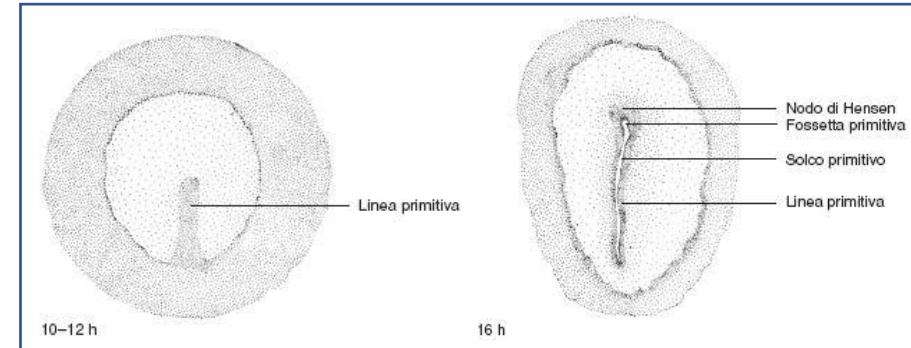
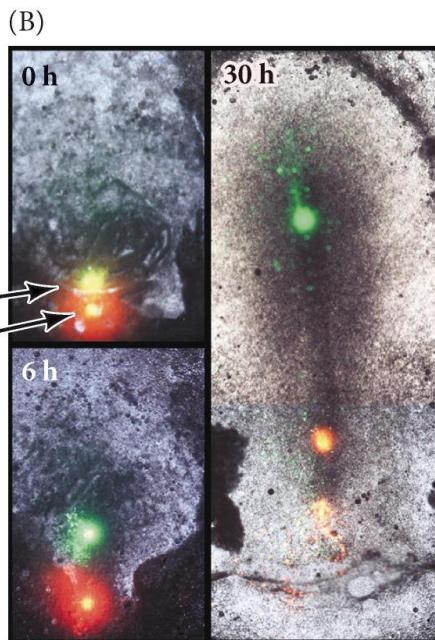
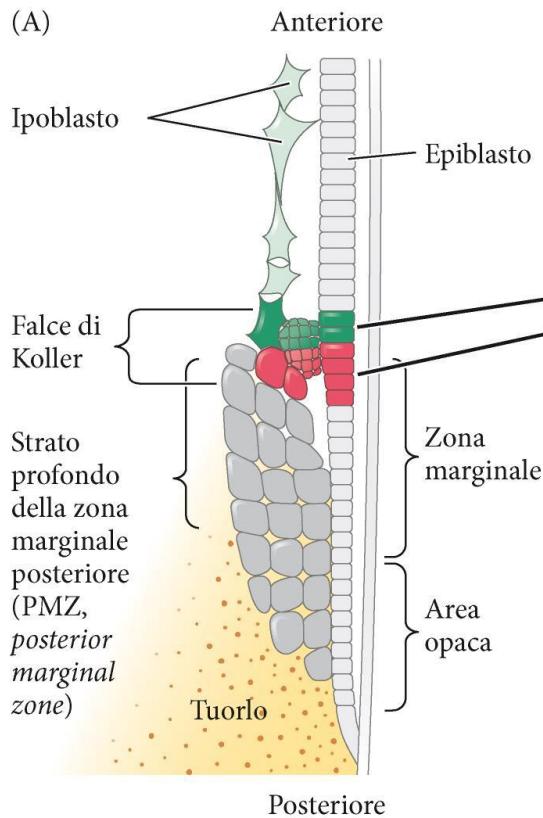


Vista dorsale del blastoderma dell'embrione di pollo, a vari tempi di incubazione:

- a) 3-4 ore,
- b) 5-6 ore,
- c) 7-8 ore,
- d) 10-12 ore,
- e) 15-16 ore.
- f) Riepilogo dei movimenti cellulari.



LA FORMAZIONE DEL NODO DI HENSEN

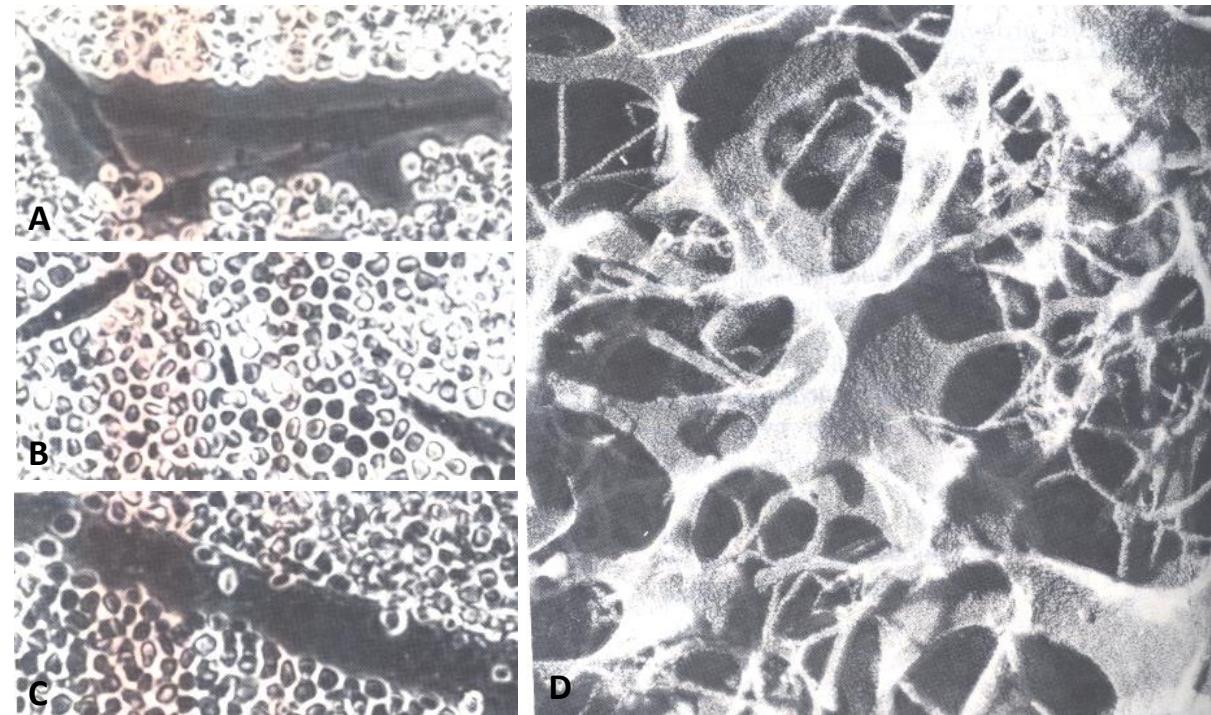


Formazione del nodo di Hensen dalla falce di Koller. Schema dell'estremità posteriore di un embrione ai primi stadi (prima che si formi la linea primitiva), che illustra le cellule marcate nelle fotografie con coloranti fluorescenti. (B) Immediatamente prima della gastrulazione, le cellule dell'estremo anteriore della falce di Koller (epiblasto e strato intermedio) sono state marcate con colorante verde. Le cellule della parte posteriore della falce di Koller sono state marcate con colorante rosso. Con la migrazione, le cellule anteriori hanno formato il nodo di Hensen e i suoi derivati notocordali, le cellule posteriori hanno formato la regione posteriore della linea primitiva. Su ogni fotografia è indicato il tempo trascorso dall'iniezione del colorante. (Da Bachvarova et al. 1998; fotografie per gentile concessione di R.F. Bachvarova.)



Formatosi il solco primitivo, l'ingressione di cellule avviene attraverso una transizione epitelio-mesenchima, stimolata dal *fattore di dispersione* (*Scatter factor*).

L'ingressione di cellule singole è sostenuta dalla matrice extracellulare depositata nel blastocеле.



Rivestimento di proteoglicani che circonda cellule mobili.

- A) Rivestimento di ialuronidato che circonda mioblasti di pollo in coltura, che li isola da eritrociti fissati, a distanza significativa dal bordo cellulare.
- B) Se i mioblasti vengono trattati con ialuronidasi, questo rivestimento scompare.
- C) Il rivestimento scompare anche quando i mioblasti cessano di dividersi, quando si uniscono insieme e si differenziano.
- D) Foto SEM di ialuronidato in soluzione acquosa, che mostra un reticolo fibrillare ramificato.



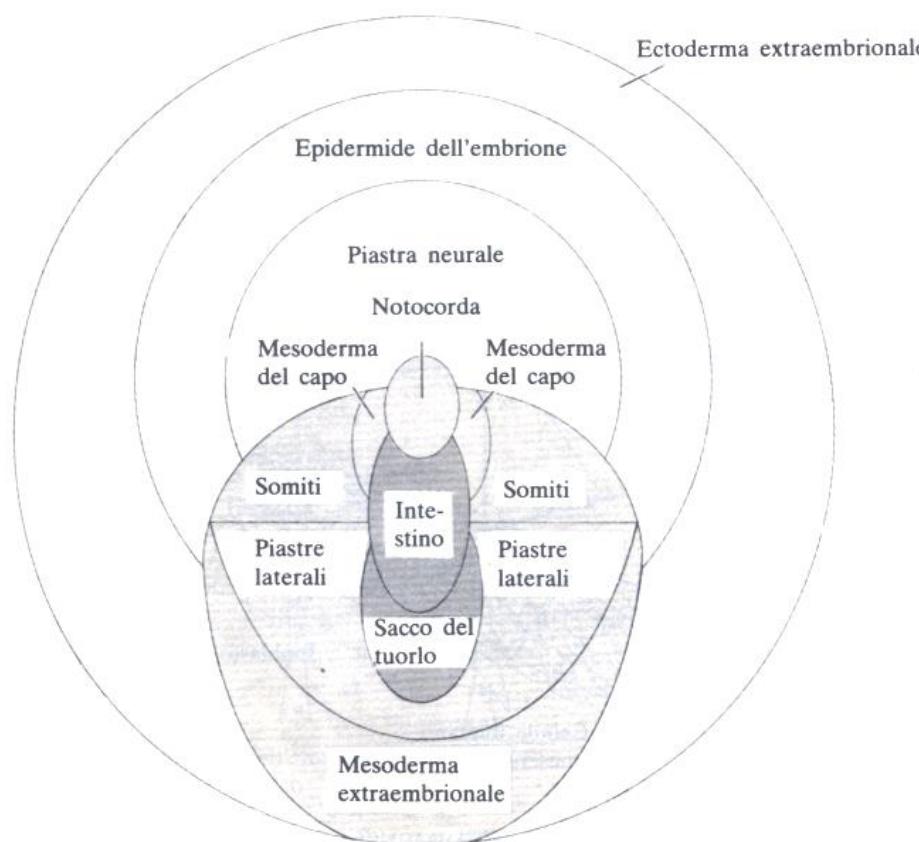


Figura 25. Mappa dei territori presuntivi di embrione di pollo immediatamente prima della gastrulazione. La stria primitiva non si è ancora formata, ma alla fine si estenderà fino alla regione della notocorda. L'ectoderma presuntivo è bianco, il mesoderma presuntivo è grigio chiaro e l'endoderma presuntivo è grigio scuro (Da Balinsky, 1975).

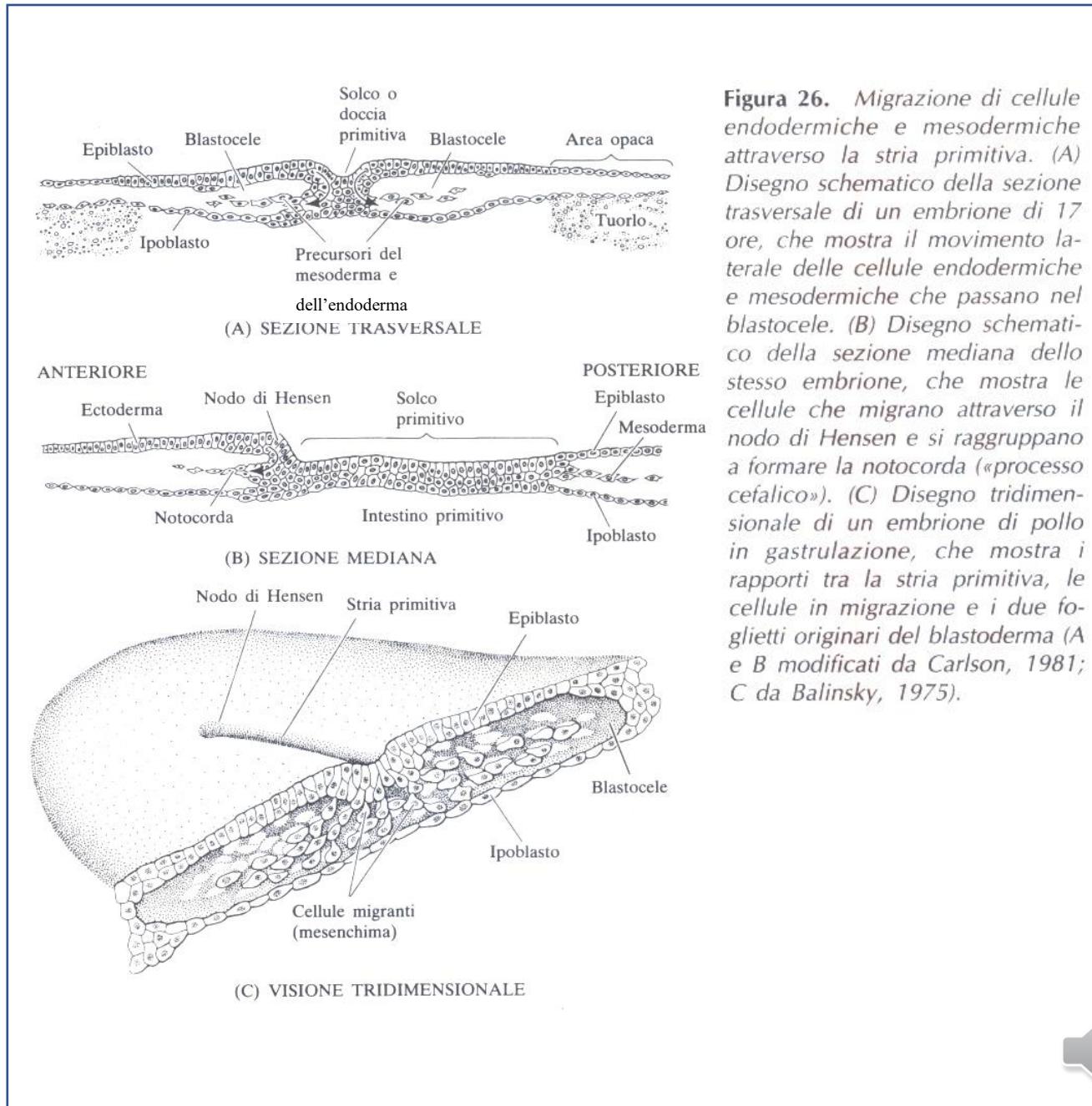
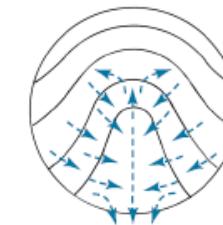
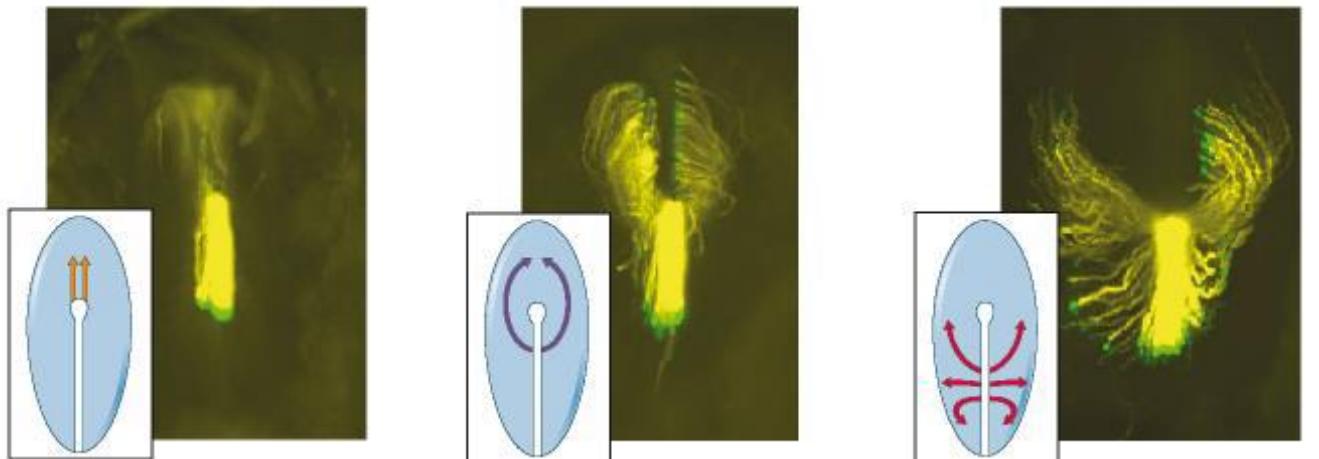
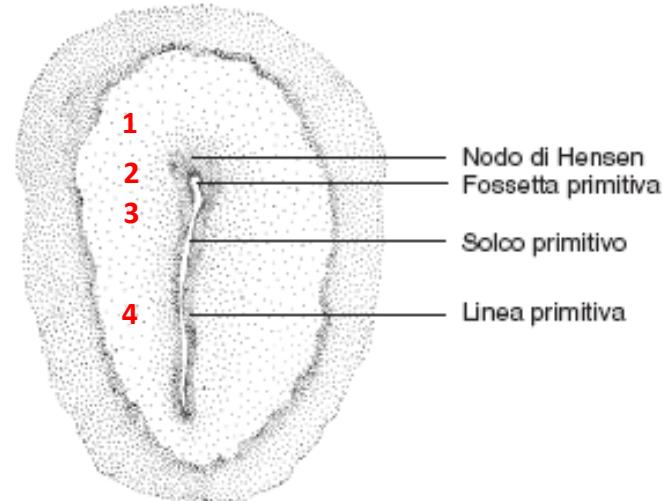


Figura 26. Migrazione di cellule endodermiche e mesodermiche attraverso la stria primitiva. (A) Disegno schematico della sezione trasversale di un embrione di 17 ore, che mostra il movimento laterale delle cellule endodermiche e mesodermiche che passano nel blastocoel. (B) Disegno schematico della sezione mediale dello stesso embrione, che mostra le cellule che migrano attraverso il nodo di Hensen e si raggruppano a formare la notocorda («processo cefalico»). (C) Disegno tridimensionale di un embrione di pollo in gastrulazione, che mostra i rapporti tra la stria primitiva, le cellule in migrazione e i due foglietti originari del blastoderma (A e B modificati da Carlson, 1981; C da Balinsky, 1975).

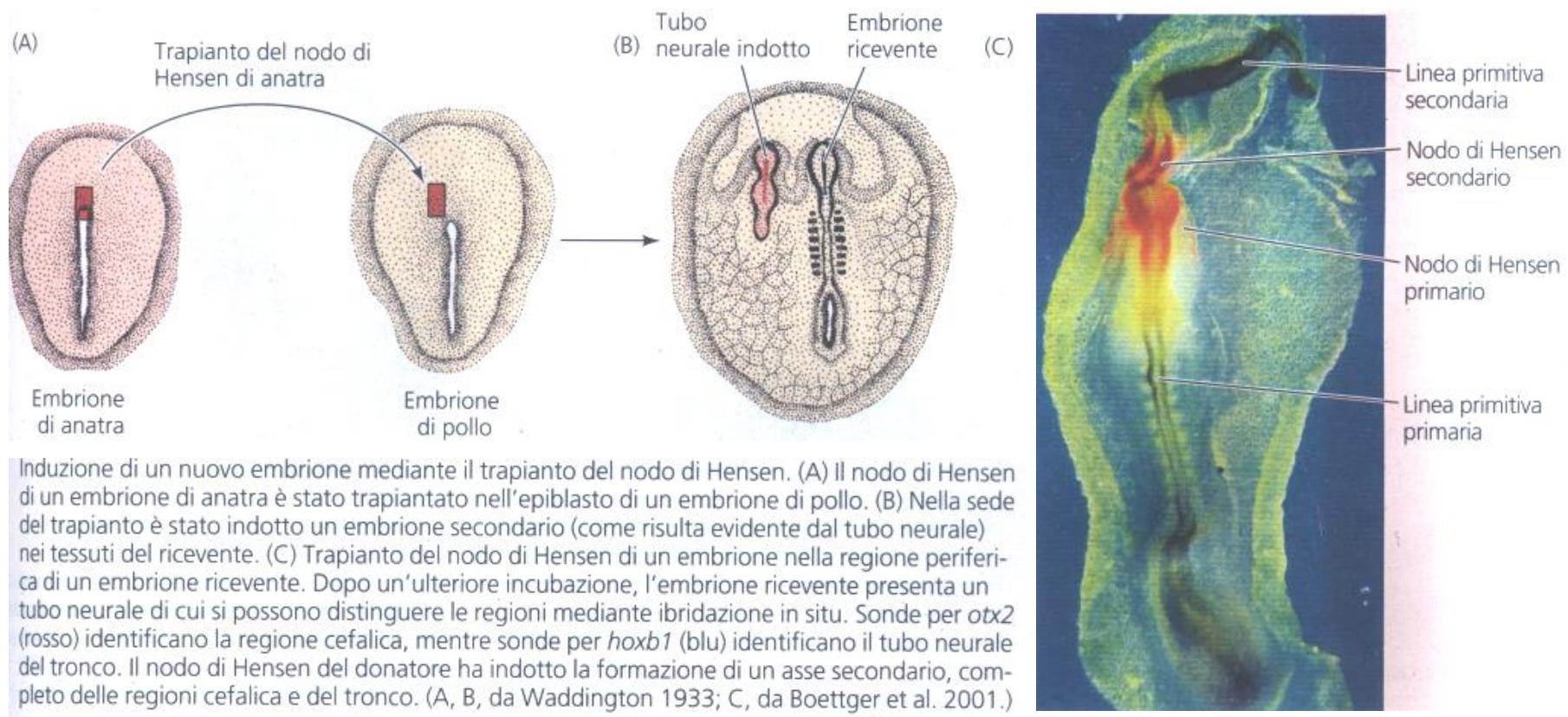


ORDINE DI MIGRAZIONE ATTRAVERSO LA STRIA PRIMITIVA E IL NODO DI HENSEN

- 1) destino: **endoderma anteriore (faringe)**
- 2) destino: **mesenchima della testa e mesoderma della placca precordale**; processo della testa
- 3) destino: **notocorda**
- 4) destino: **mesoderma intermedio**

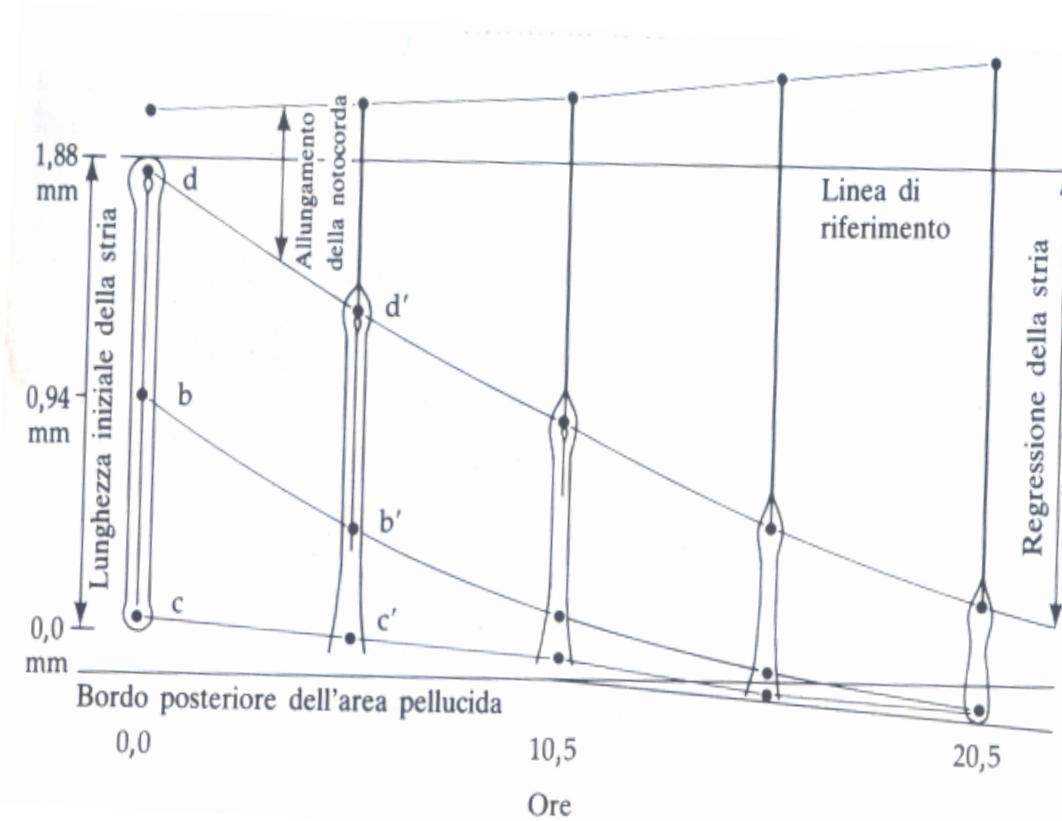


IL TRAPIANTO DEL NODO DI HENSEN PUO' INDURRE UN ASSE SECONDARIO



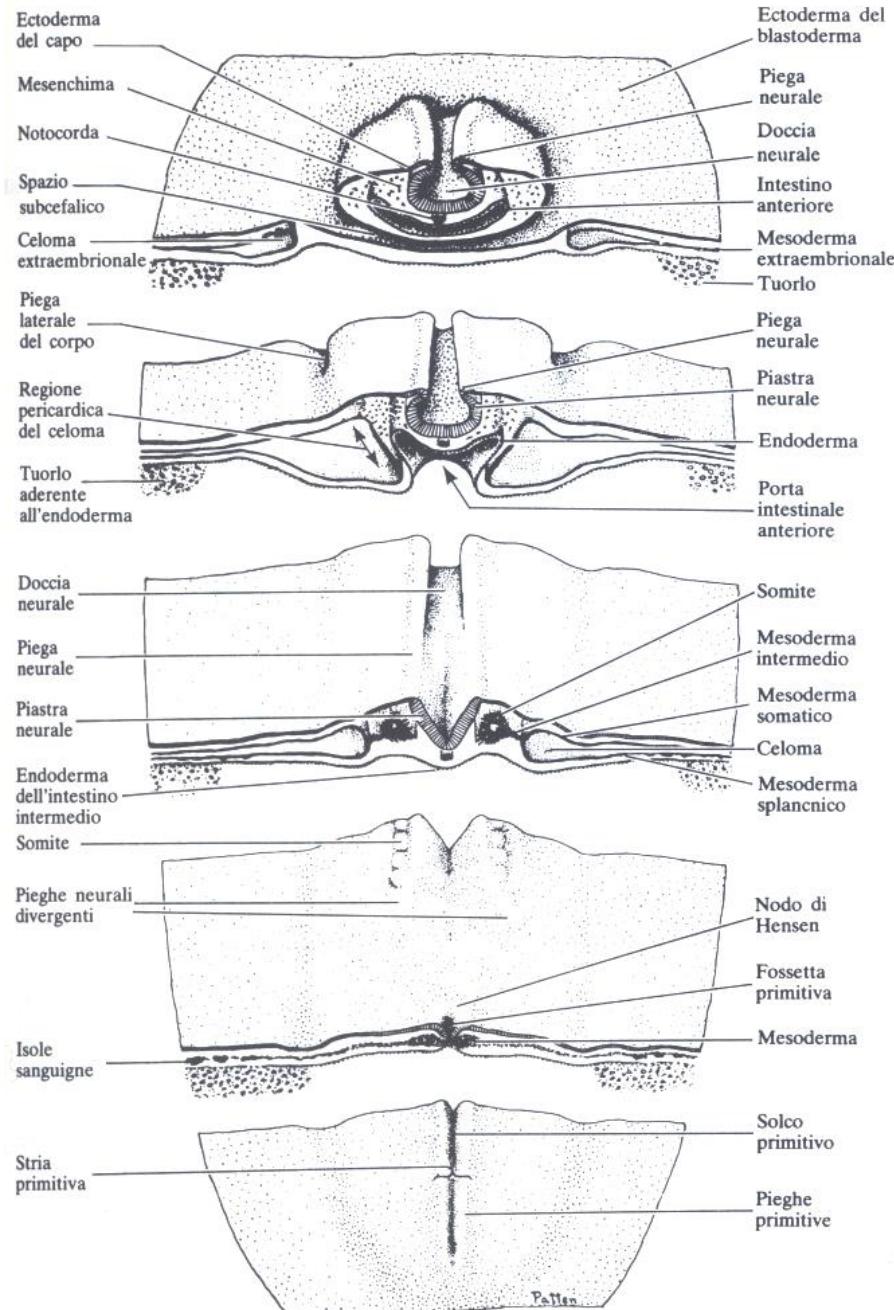
L'EPIBOLIA DELL'ECTODERMA PROVOCA L'ACCORCIAMENTO PROGRESSIVO DELLA STRIA PRIMITIVA (REGRESSIONE)

Figura 27. Regressione della stria primitiva, che lascia la notocorda nella sua scia. I vari punti furono seguiti dopo che la stria primitiva aveva raggiunto la massima lunghezza. Il tempo è in ore, dopo che la stria primitiva aveva raggiunto la massima lunghezza (Da Spratt, 1947).



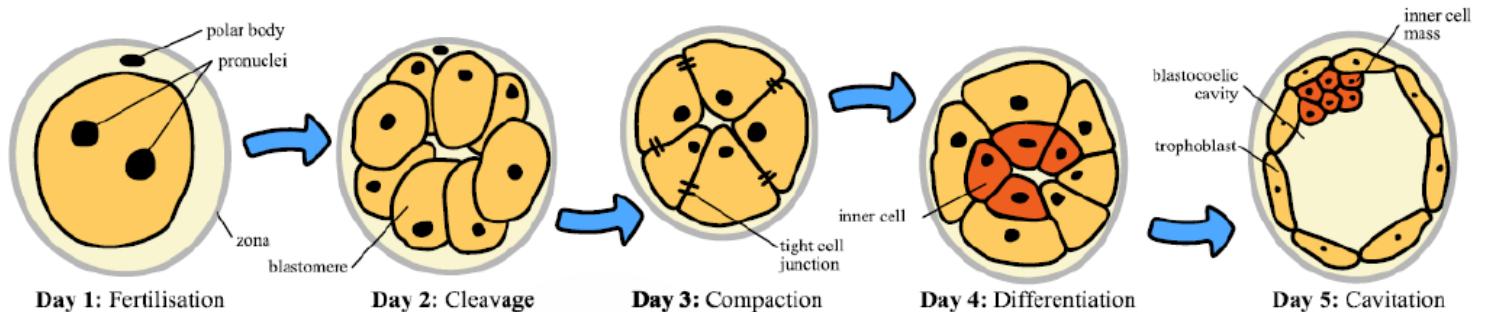
UN GRADIENTE ANTERO-POSTERIORE DELLO SVILUPPO

Stereogramma di un embrione di pollo di 24 ore.
Le parti cefaliche stanno ultimando la neurulazione,
mentre le parti caudali sono ancora in gastrulazione.
(da Patten, 1971, da Huettner, 1949)

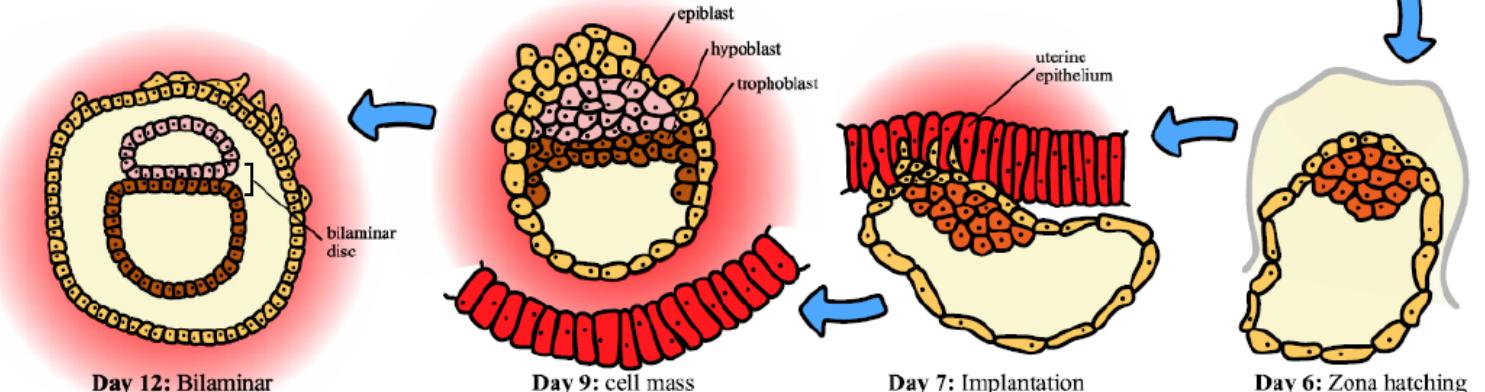


LA GASTRULAZIONE DEI MAMMIFERI EUTERI

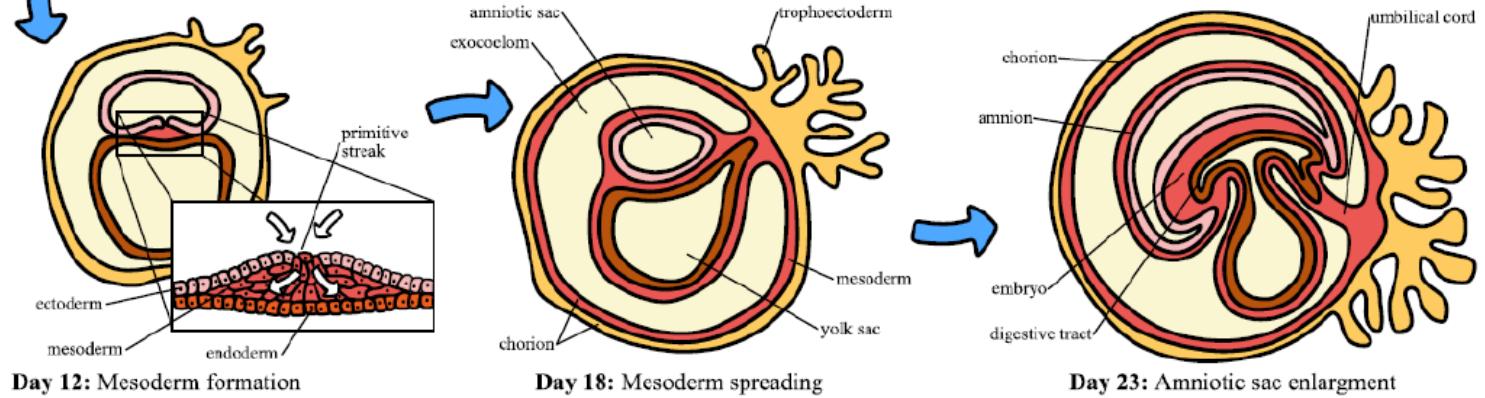
Nelle tube uterine



Nella decidua



Gastrulazione e
placentazione



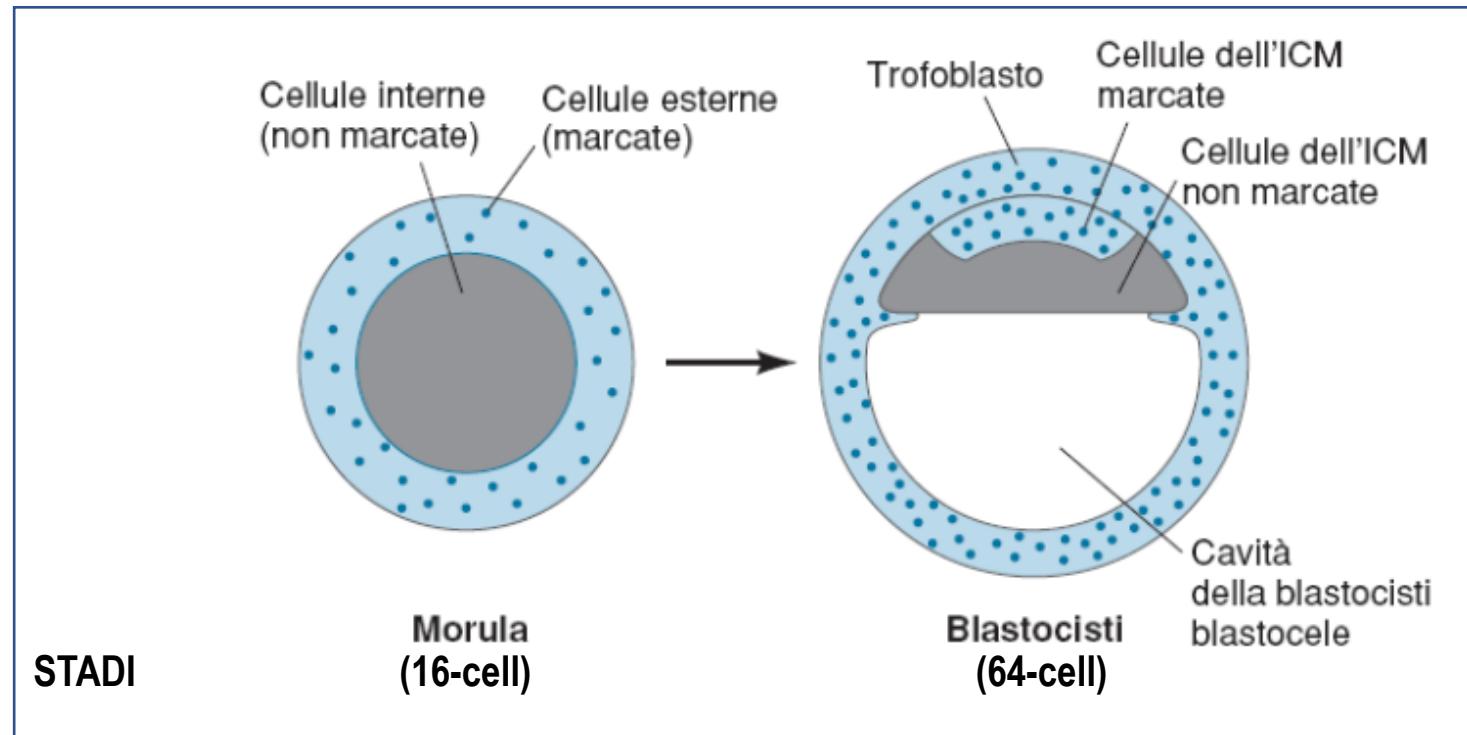
ESPERIMENTI DI MARCATURA SUPERFICIALE DEI BLASTOMERI

SULLA MORULA (16-cellule):

le cellule della ICM della blastocisti (64-cellule) derivano in maggioranza dai blastomero interni della morula (qualcuna da quelli esterni).

SULLA BLASTOCISTI (64-cellule):

non si verifica passaggio di cellule fra i due compartimenti (ICM e trofoblasto). I destini sono separati.



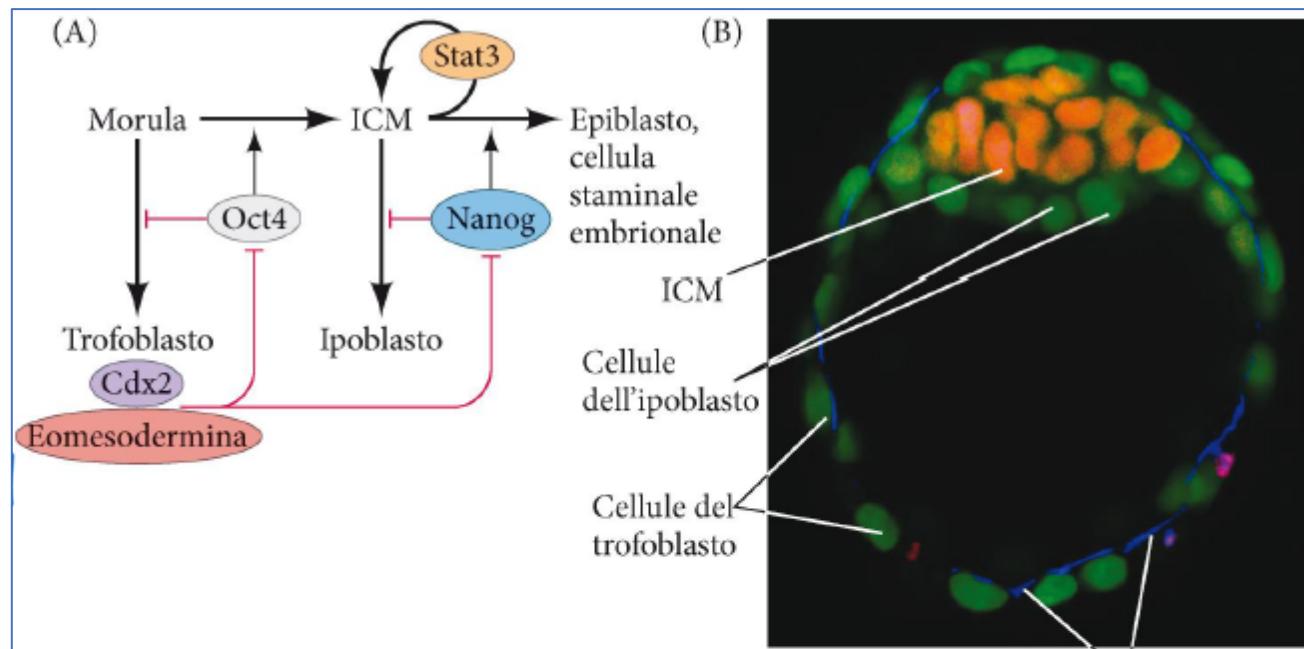
LE CELLULE DEL TROFOBLASTO E DELLA ICM DIFFERISCONO NELL'ESPRESSONE GENICA

Prima della formazione della blastocisti, ogni blastomero della morula esprime sia Cdx2 sia Oct4.

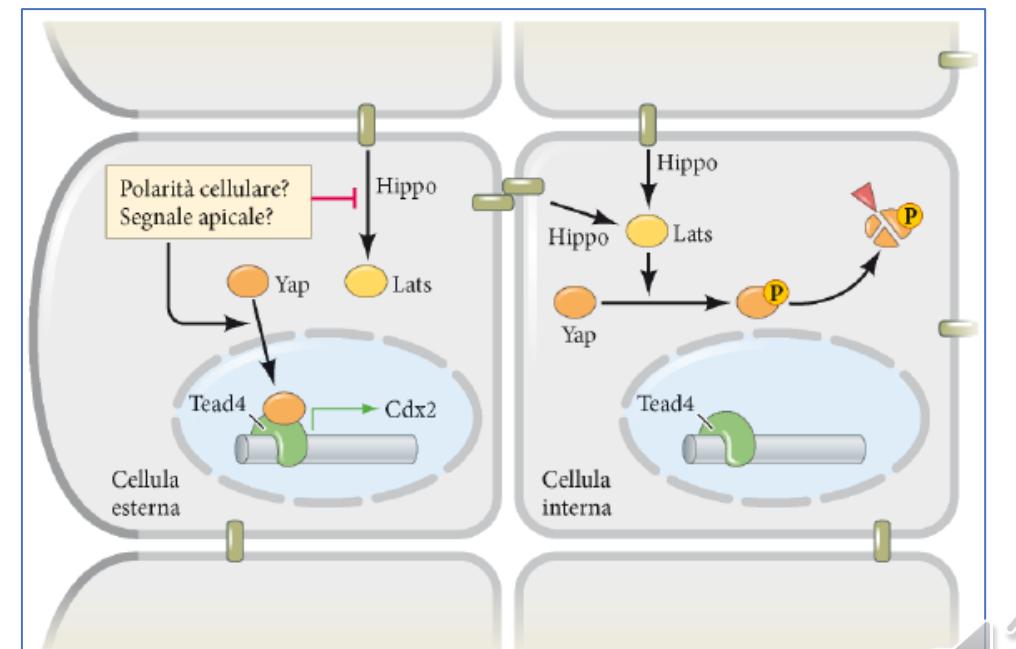
Poi, con la formazione della blastocisti, solo le cellule del trofoblasto esprimono il fattore di trascrizione **Cdx2** che inibisce l'espressione di **Oct4** e **Nanog**.

Le cellule della ICM continuano a esprimere **Oct4** (fattore di Yamanaka) che, insieme a **Stat3** (fattore di autorinnovamento), mantengono il pool di cellule pluripotenti.

Nanog impedisce alle cellule della ICM di diventare ipoblasto.

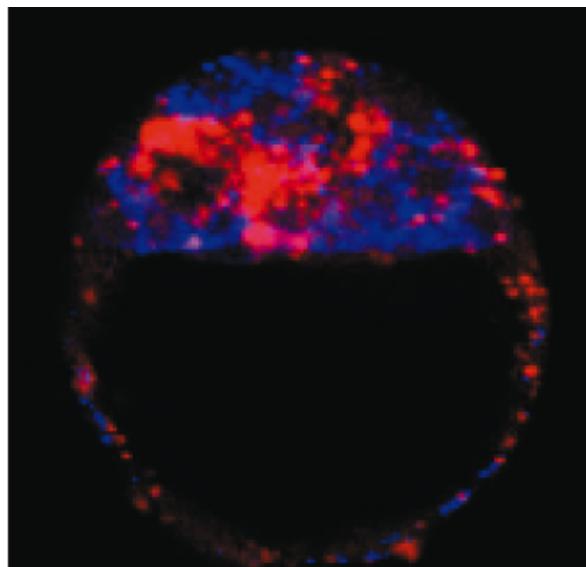


L'espressione di Cdx2 è regolata dalla via di trasduzione del segnale **Hippo**, probabilmente in modo dipendente dalla posizione.



DAY 3,5 pf

Le cellule della ICM destinate a generare i futuri **epiblasto (Nanog-IR; blu)** e **ipoblasto (Gata6-IR; rosso)** non sono distribuite in lamine distinte, ma possono essere identificate per il differente profilo di espressione.



DAY 4,5 pf

SI ABBOZZA IL DISCO GERMINALE BILAMINARE

Si forma l'ipoblasto per delaminazione della ICM.

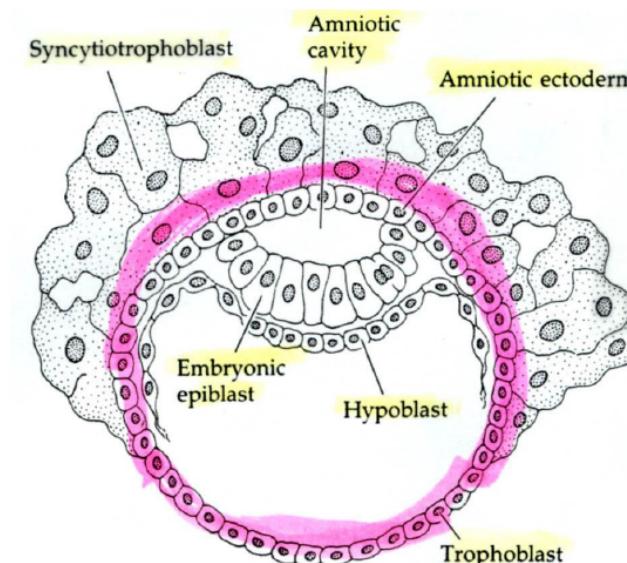
Il resto della ICM forma l'epiblasto.

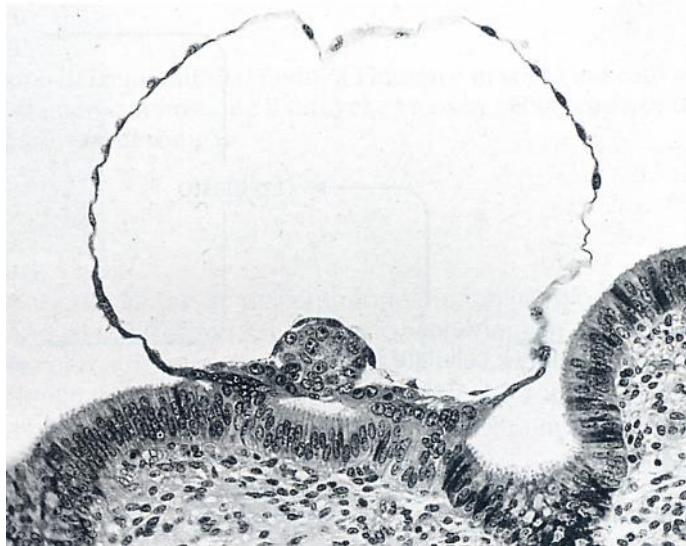
Fra le due lamine si costituisce un blastocele secondario.

L'epiblasto, causa accumulo di liquido, si suddivide in epiblasto embrionale e epiblasto amniotico.

SI FORMA L'AMNIOS

L'ipoblasto si divide in una porzione viscerale (sotto l'epiblasto) e parietale (sotto il trofoblasto).





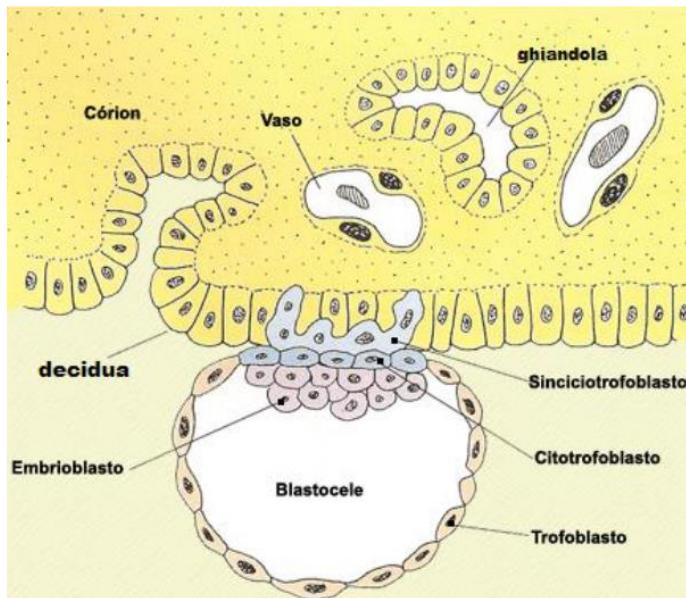
La blastocisti si impianta nell'utero.

Si avvia il differenziamento del trofoblasto (citotrofoblasto e sinciziotrofoblasto).

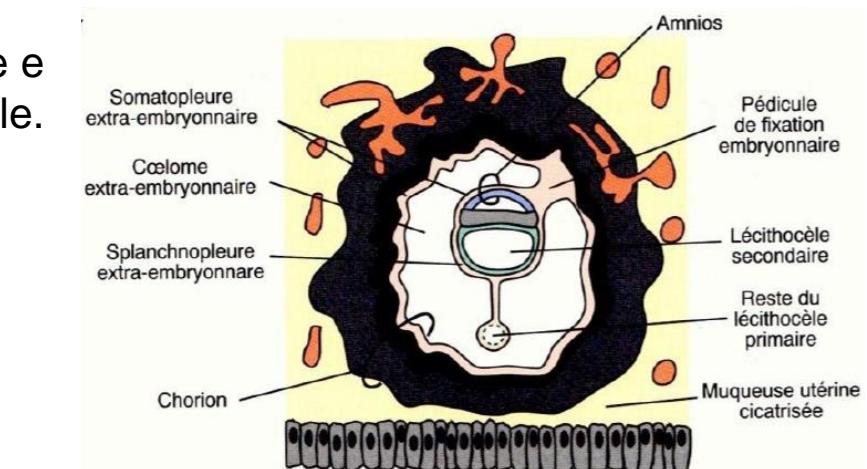
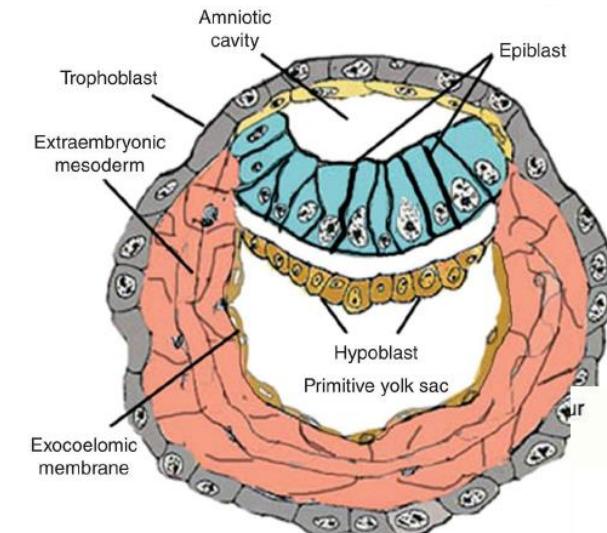
Il citotrofoblasto invia segnali di attrazione verso i vasi sanguigni materni.

Il mesoderma extraembrionale penetra nel trofoblasto e origina i vasi sanguigni dell'embrione (scambi con la madre).

Il peduncolo (collegamento fra embrione e trofoblasto) formerà il cordone ombelicale.



Si avvia la formazione della placenta:
CORION, parte embrionale
DECIDUA, parte materna



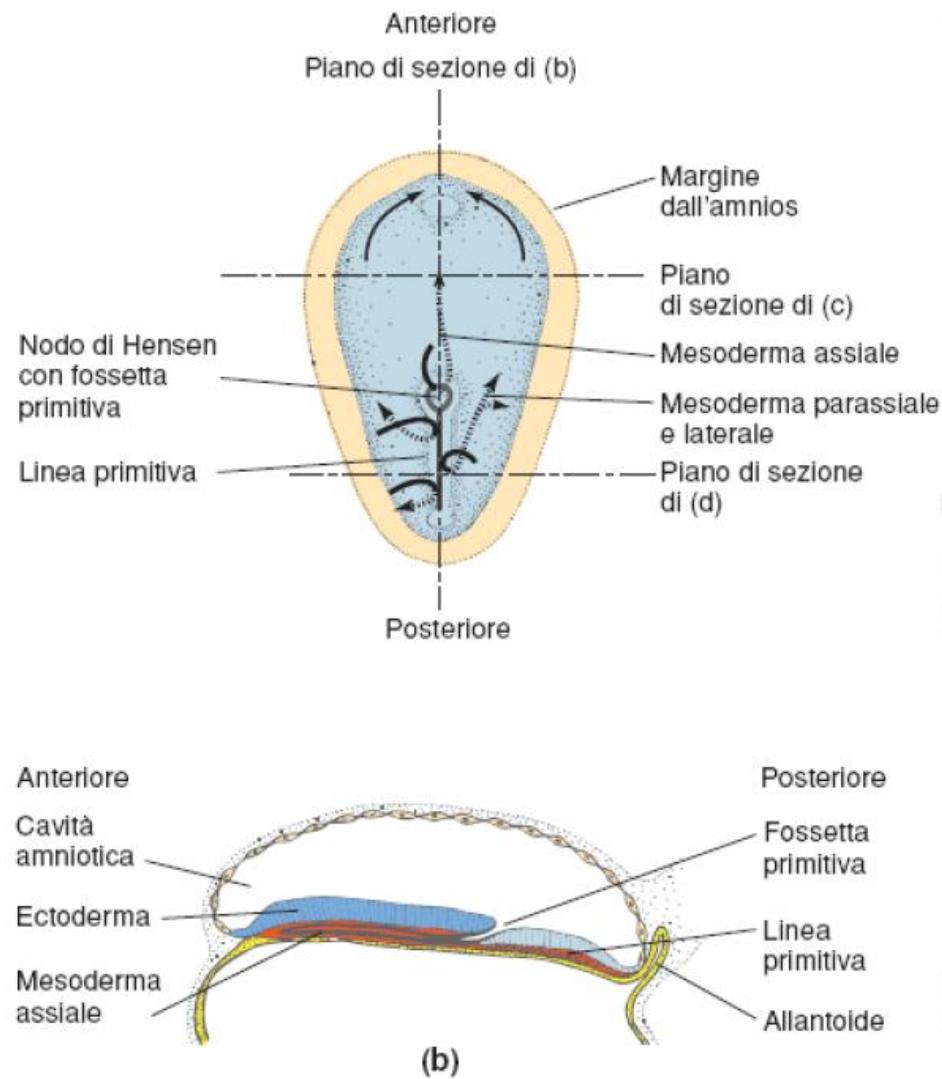
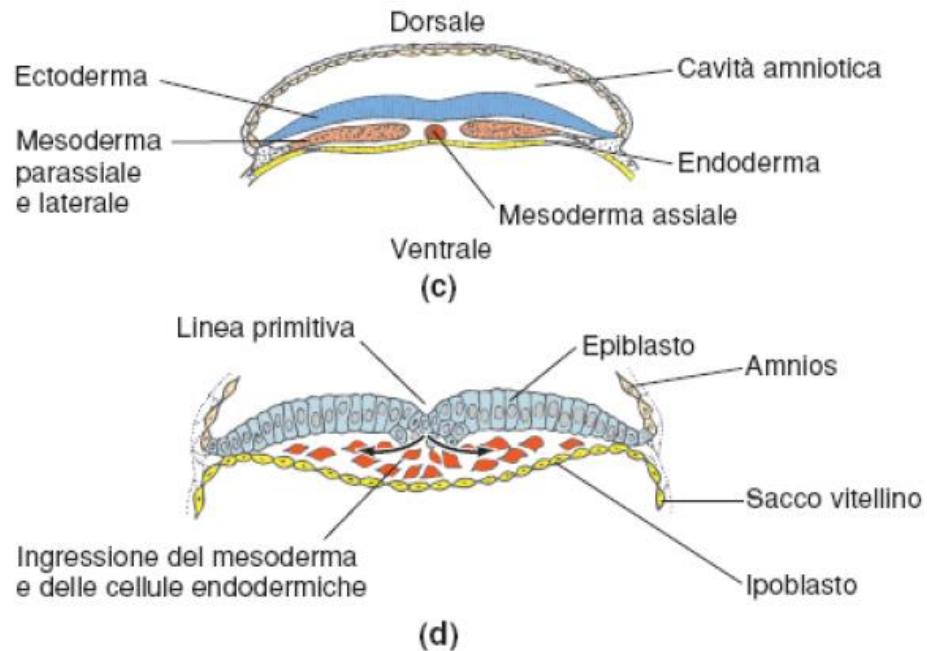
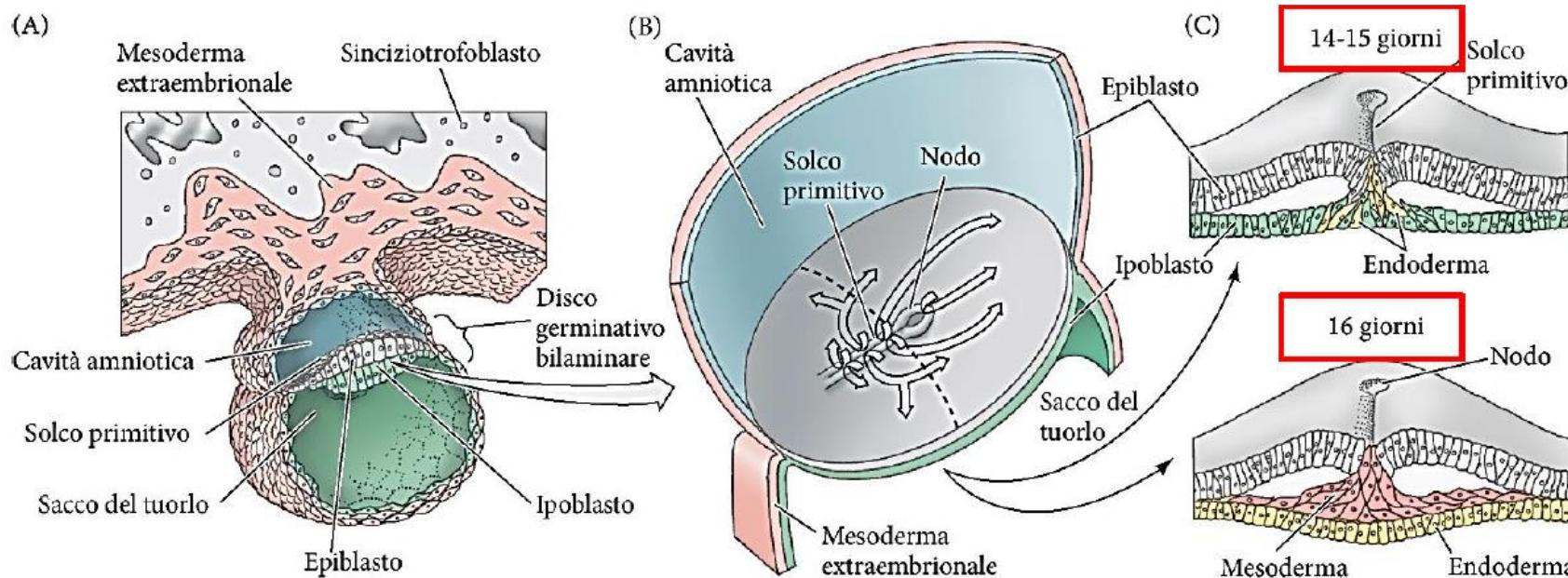


Figura 10.34 Gastrulazione in un embrione umano di 16 giorni. **(a)** Visione dal lato dorsale dell'epiblasto dopo che l'amnios è stato rimosso. Le cellule dell'endoderma e del mesoderma convergono verso la linea primitiva, entrano attraverso la fossetta primitiva e la doccia primitiva e si localizzano tra l'epiblasto e l'ipoblasto (frecce tratteggiate). **(b)** Sezione sagittale dello stesso embrione. **(c)** Sezione trasversale dello stesso embrione in **(a)** a livello della regione davanti del nodo di Hensen. **(d)** Sezione trasversale effettuata posteriormente al nodo di Hensen.



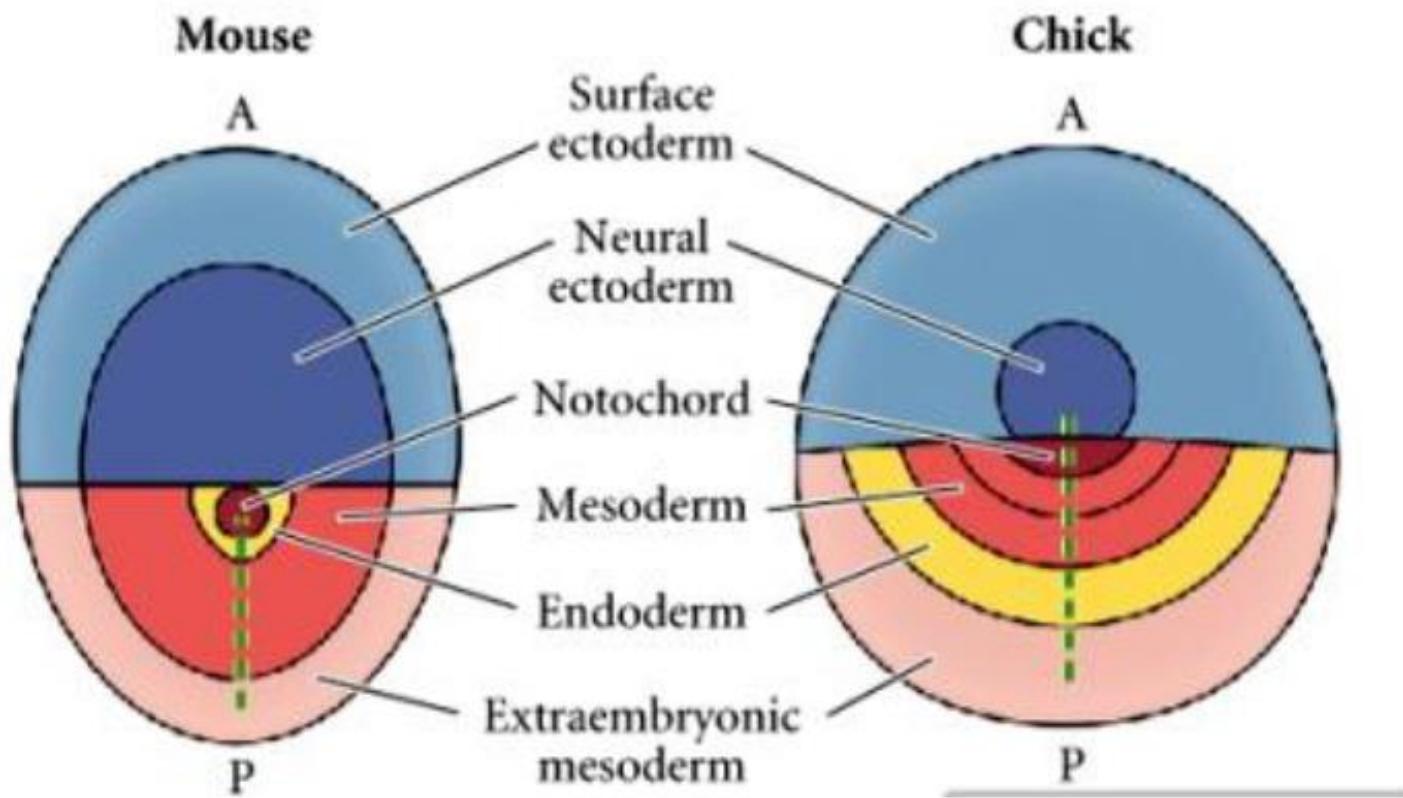
LA FORMAZIONE DELLA STRIA (o LINEA) PRIMITIVA



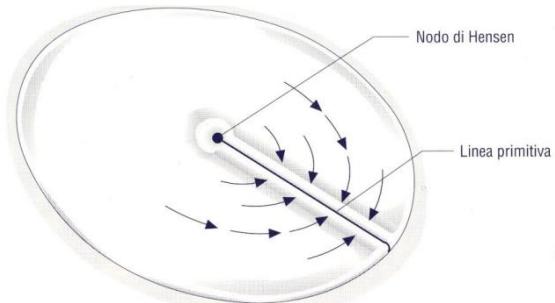
Si forma il nodo primitivo (futuro lato posteriore) che si allunga anteriormente a formare la stria primitiva. I blastomeric dell'endoderma e mesoderma prospettico migrano attraverso la stria primitiva e il nodo, a seconda del loro destino finale.

La transizione epitelio-mesenchima dei blastomeric che compiono l'ingressione nel solco primitivo è regolata da FGFs (es. FGF8), che reprimono l'espressione di E-caderina e inducono l'espressione del fattore di trascrizione Snail, come anche di geni del mesoderma, quali *Brachyury* e *Tbx6*.



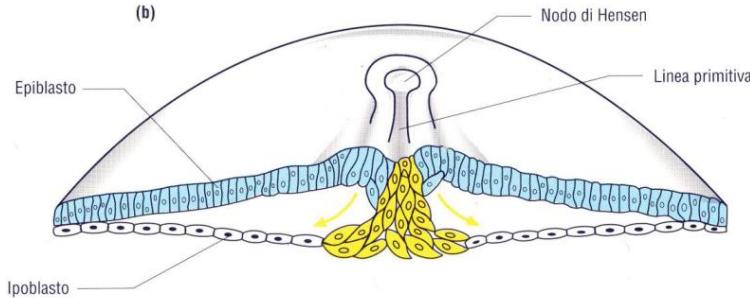


(a)



L'epiblasto migra verso la linea primitiva;

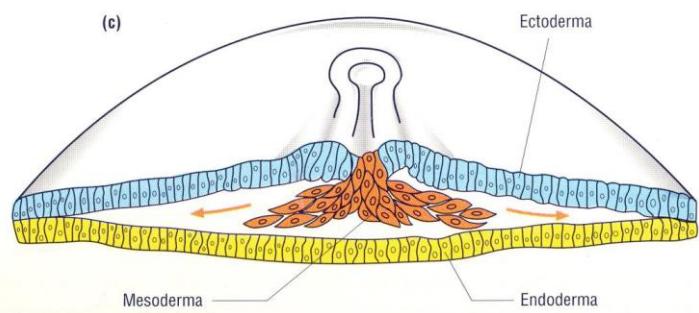
(b)



(15 giorni)

Le cellule dell'epiblasto che entrano nel solco primitivo spostano l'ipoblasto e formano l'endoderma;

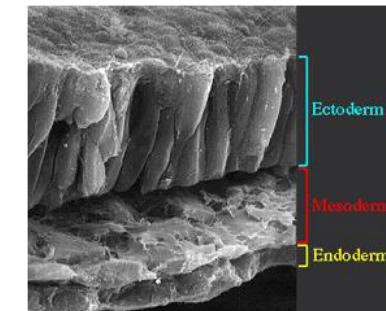
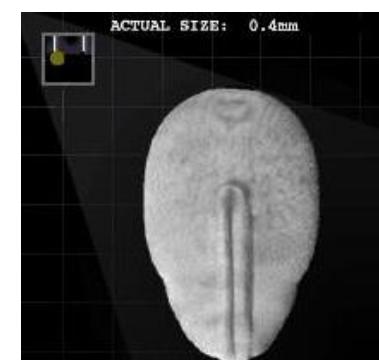
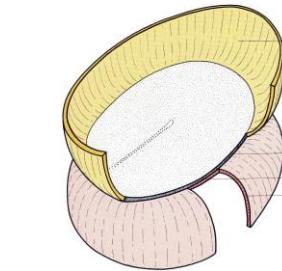
(c)



(16 giorni)

Una seconda migrazione attraverso il solco primitivo forma il mesoderma. Si assiste all'accrescimento ed allungamento del disco embrionale;

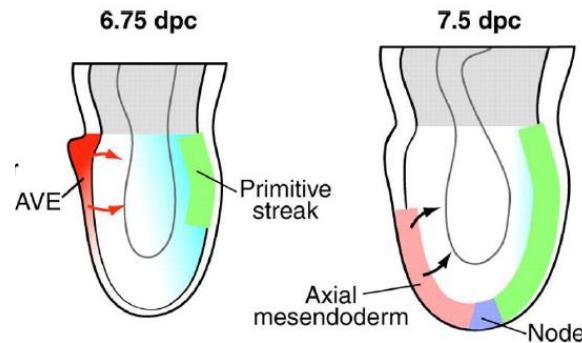
L'epiblasto al termine delle migrazioni forma l'ectoderma.



FORMAZIONE DELL'ASSE ANTERO-POSTERIORE

Nel topo, le interazioni fra epiblasto e tessuto extraembrionale regolano la formazione di due centri di segnalazione:

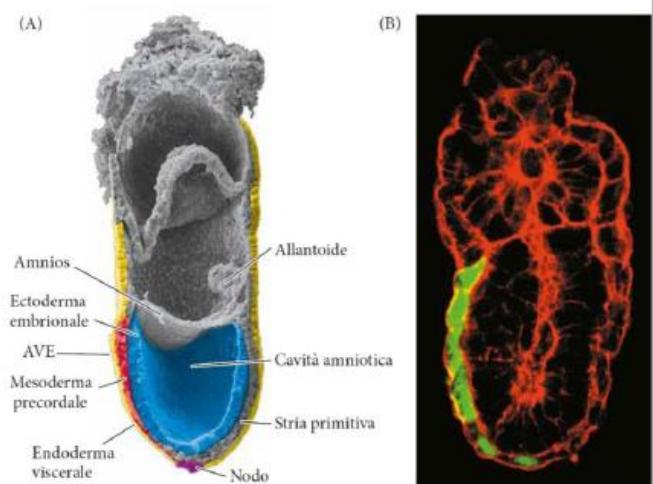
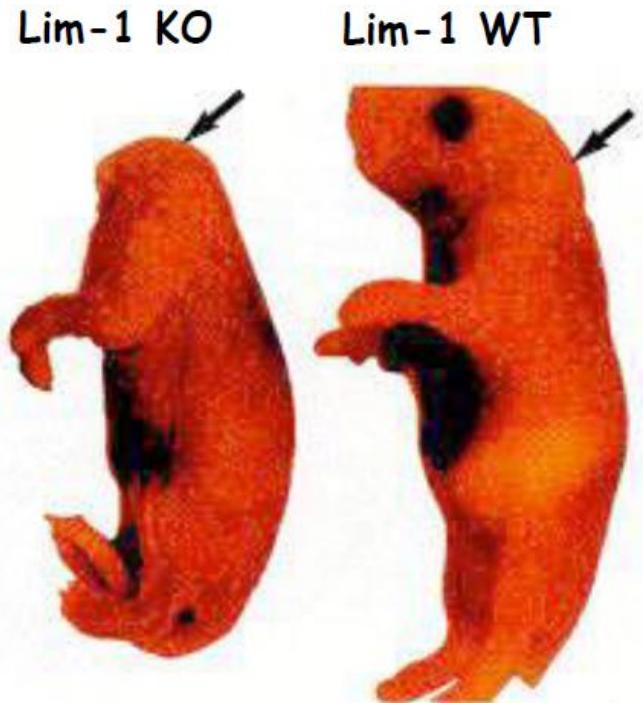
- 1) l'**Endoderma Viscerale Anteriore** (AVE),
- 2) il **Nodo** (equivalente dell'organizzatore).



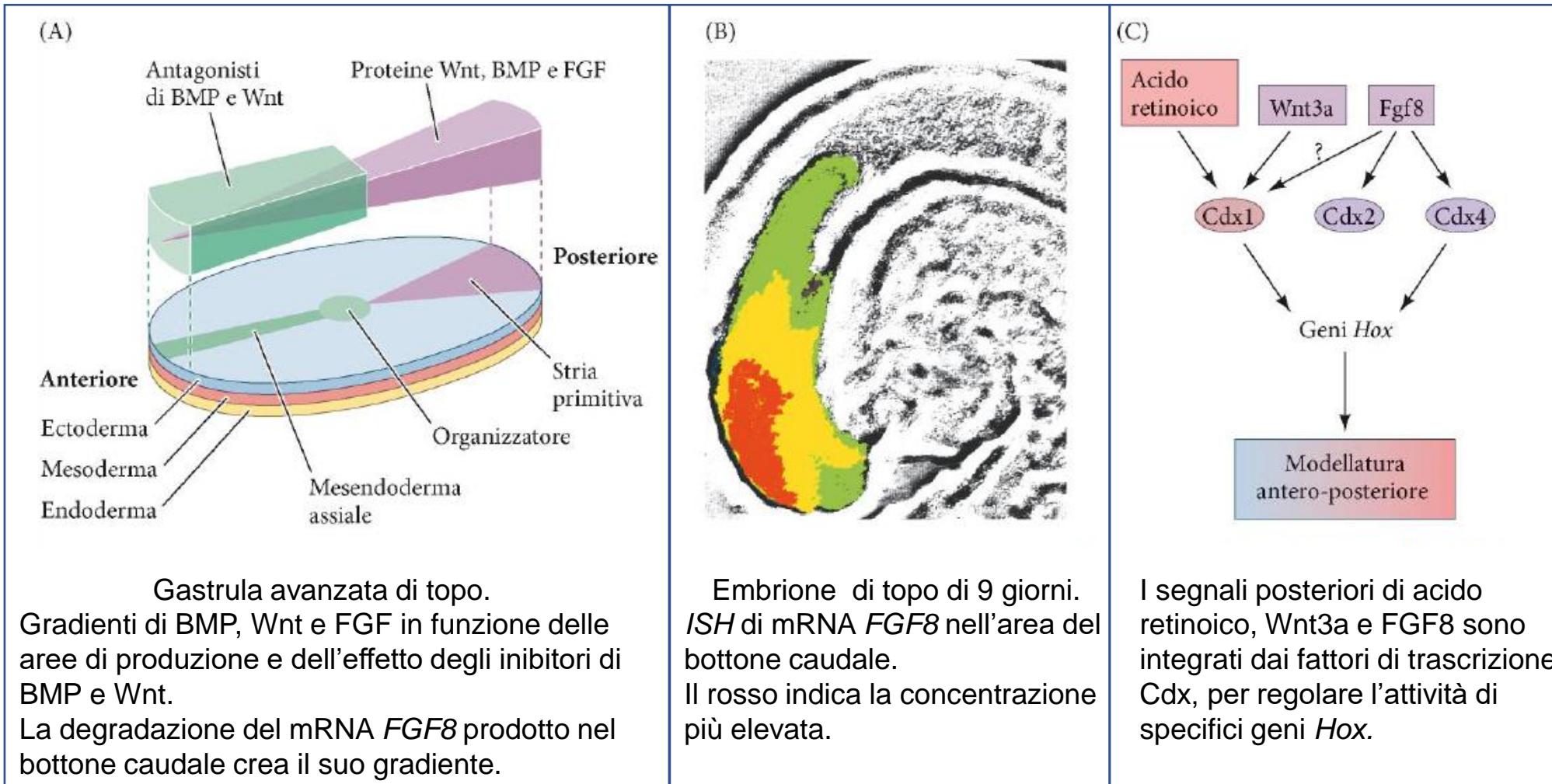
L'AVE induce l'espressione di:

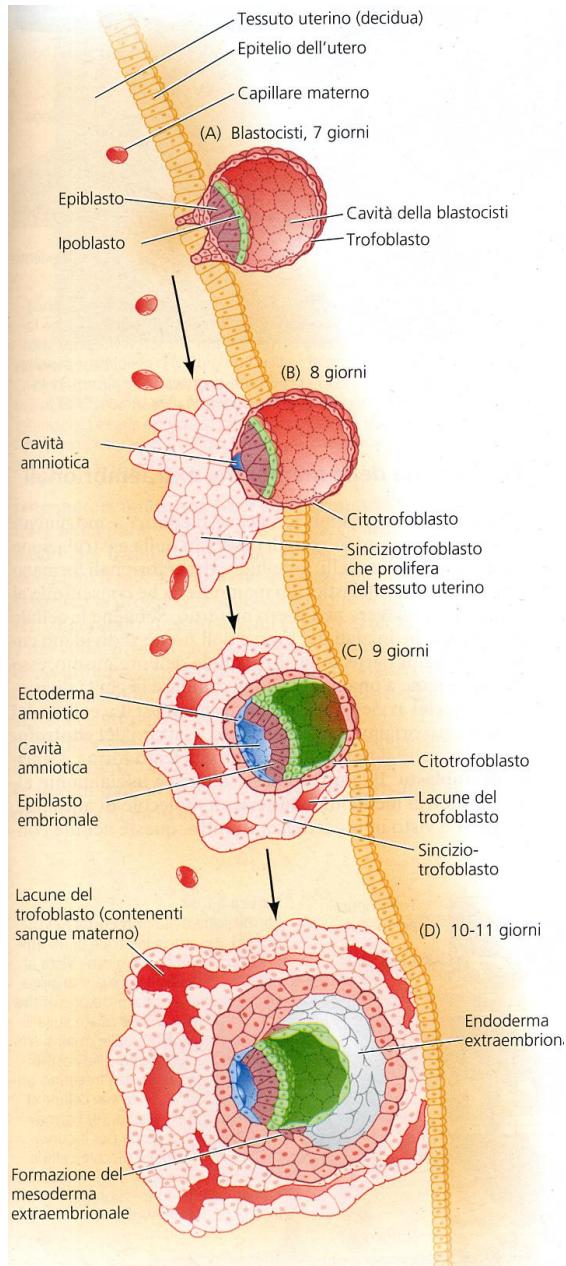
- Fattori di trascrizione necessari per la formazione della testa (es. Lim1, Otx2)
- Fattori diffusibili, inibitori delle vie Wnt e BMP (es. Cerberus)

Il NODO esprime fattori inibitori delle BMP (Nodal, Cordin, Noggin) per regolare la formazione del tubo neurale.



FORMAZIONE DELL'ASSE ANTERO-POSTERIORE





Formazione dei tessuti nell'embrione umano nei giorni dal settimo all'undicesimo. (A, B) Blastocisti umana immediatamente prima della gastrulazione. Dalla massa cellulare interna si delaminano le cellule dell'ipoblasto che rivestono la cavità della blastocisti, formandosi l'endoderma extraembrionario del sacco vitellino primitivo e un blastodisco bilaminare (epiblasto e ipoblasto) simile a quello che si osserva nell'embrione degli uccelli. Il trofoblasto si divide in citotrofoblasto, che formerà i villi, e sinciziotrofoblasto, che penetrerà nei tessuti uterini. (C) Nel frattempo l'epiblasto si divide in ectoderma amniotico (che circonda la cavità amniotica) ed epiblasto embrionale. Il mammifero adulto si forma dalle cellule dell'epiblasto embrionale. (D) L'endoderma extraembrionario forma il sacco vitellino.





PNAS
Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America
www.pnas.org

**Endogenous retroviruses regulate periimplantation
placental growth and differentiation**

K.A. Dunlap et al.

Il genoma della pecora contiene copie di genomi retrovirali endogeni (ERVs) correlati a *Jaagsiekte sheep retrovirus* (JSRV), esogeno e patogeno.

JSRVs endogeni (enJSRVs) sono espressi, a livello della placenta, nelle cellule mononucleate del trofoectoderma, e ancor più nelle cellule binucleate del trofoblasto (BNCs) e nel sinciziotrofoblasto.

L'espressione degli enJSRV envelope mRNAs si avvia dal giorno 12 di gravidanza, in corrispondenza alla produzione da parte del trofoectoderma di IFN- τ .

L'espressione degli enJSRV envelope nello sviluppo della placenta ovina è altamente similare a quanto osservato nei prodotti degli ERVenv umani, dei primati e dei topi.

Esperimenti di perdita di funzione di enJSRVenv hanno testato il loro ruolo biologico nello sviluppo dell'embrione ovino e nella morfogenesi placentale.





ESPERIMENTI *in vitro*

Un oligonucleotide antisenso (MAOenv), con sequenza complementare alla regione nucleotidica attorno al codone di start o a possibili siti di splicing, ha inibito in modo specifico (dose-dipendente) la traduzione di enJSRVenv mRNA.

La verifica *in vitro* è stata effettuata mediante trasfezione transiente di 293 cellule T umane con cDNA di enJSRVenv e aggiunta di quantità controllate di MAOenv o due oligo di controllo (MAOstd e MAO5mis; il primo ha come target siti di splicing mutati nel gene della β-globina umana, il secondo differisce per 5 basi da MAOenv). MAO5mis e MAOstd non hanno effetti sulla produzione proteica.

ESPERIMENTI *in vivo*

Iniezione di MAO nel lume dell'utero ovino al giorno 8 di gravidanza e studio degli effetti sull'embrione ai giorni 16 (studio 1) e 20 di gravidanza (studio 2)

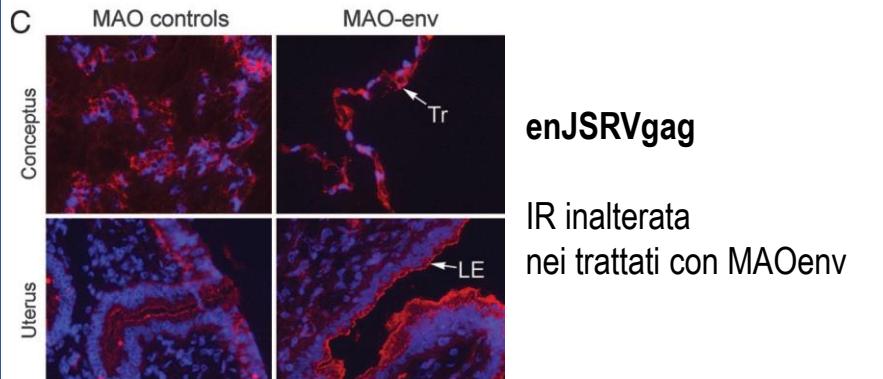
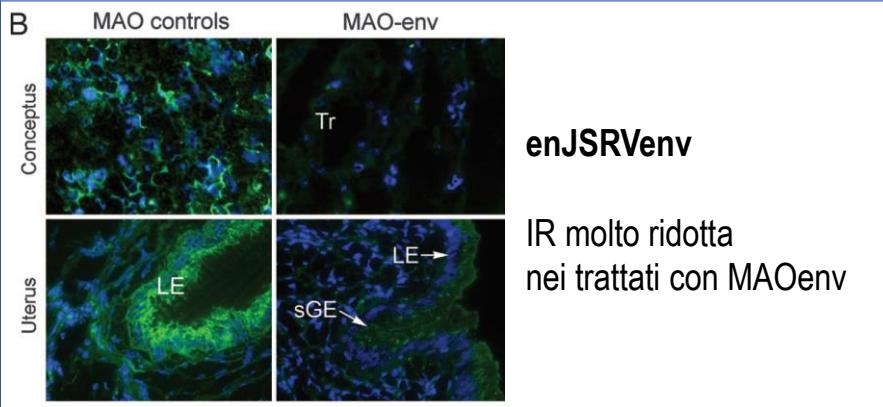
Morpholino	Study one: Day 16 after mating				Study two: Day 20 after mating			
	Pregnancy rate,* %	Conceptus development	IFN-γ in uterine flush	BNCs, %	Pregnancy rate,* %	Conceptus development	IFN-γ in uterine flush	BNCs, %
MAO-std	100 (5/5)	Elongated, filamentous	282 ± 50	12 ± 1	100 (5/5)	Elongated, filamentous	ND	ND
MAO-5mis	100 (5/5)	Elongated, filamentous	232 ± 50	10 ± 1	83 (5/6)	Elongated, filamentous	ND	ND
MAO-env	100 (5/5)	Growth-retarded, filamentous [†]	68 ± 10	1 ± 1	20 (1/5)	Not present [‡]	ND	ND



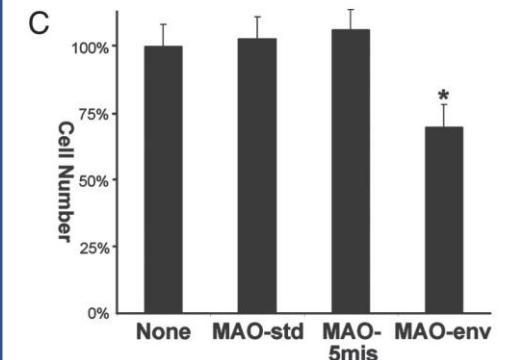
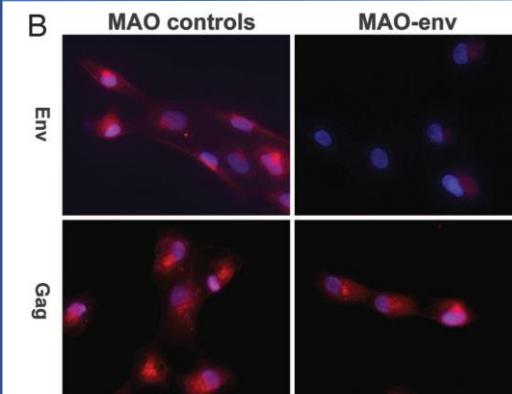
Il ritardo nello sviluppo embrionale è effettivamente associato alla riduzione di enJSRVenv. Le alterazioni del trofoectoderma possono essere direttamente correlate all'inibizione di enJSRVenv.

IHC di embrioni e uteri, mediante antisieri di coniglio.

LE, luminal epithelium; sGE, superficial glandular epithelium; S, stroma; Tr, trophectoderm.



Cellule di trofoectoderma mononucleato da embrioni al giorno 15 di gravidanza. Effetti dei morfolini (IHC e crescita cellulare).





Le prove *in vivo* hanno dimostrato il ruolo essenziale degli ERVs nella morfogenesi placentale.

L'inibizione dell'espressione degli enJSRVenv provoca una riduzione della crescita del trofoectoderma, e di conseguenza una minor produzione di IFN- τ , non sufficiente per il corretto decorrere della gravidanza.

Dai risultati *in vivo* e *in vitro* sembra altamente probabile che gli enJSRVenv abbiano un ruolo fondamentale nella crescita cellulare del trofoectoderma e nel suo differenziamento a trofoblasto durante lo sviluppo embrionale, ma i meccanismi molecolari non sono ancora chiari.

Durante l'evoluzione, alcuni ERVs si sono fissati nella linea germinale della cellula ospite, la loro espressione nella placenta ha favorito lo sviluppo embrionale e ha aumentato l'efficienza riproduttiva, e sono andati probabilmente a sostituire i meccanismi propri dell'ospite che governavano questo processo.

L'acquisizione indipendente degli ERVs sembra aver avuto un ruolo per un'evoluzione convergente della morfogenesi placentale in vari organismi.

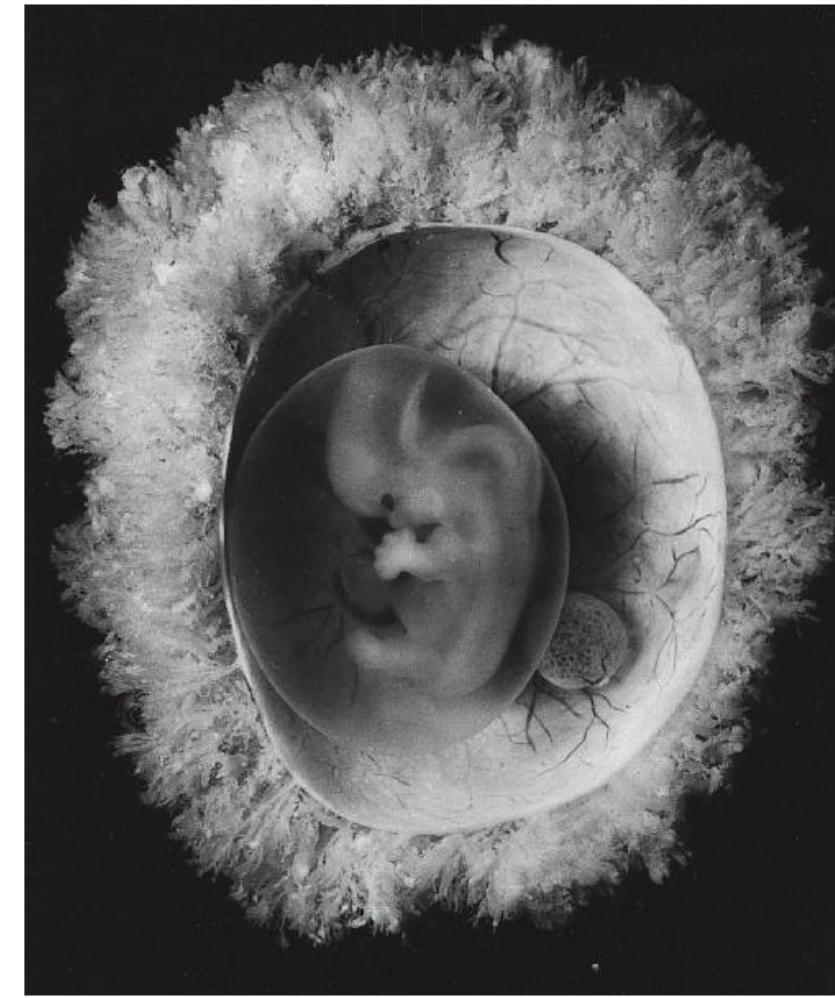
<https://www.onb.it/2018/12/13/i-retrovirus-endogeni-nellevoluzione-umana/>



Nella seconda settimana, comincia a formarsi
la *placenta primitiva*



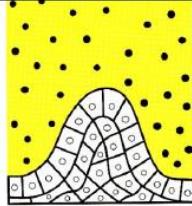
E' sferica e circonda completamente
la cavità del corion (celoma extraembrionale).
Realizza la prossimità fra sangue materno e embrionale
ed una estesa superficie di scambio.



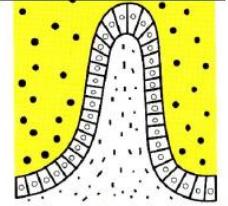
Embrione e placenta umani a 50 giorni di gestazione. L'embrione si trova all'interno dell'amnios e si possono vedere i suoi vasi sanguigni estendersi nei villi coriali. La piccola formazione sferica a destra dell'embrione è il sacco vitellino. (Carnegie Institution of Washington, per gentile concessione di C.F. Reather.)



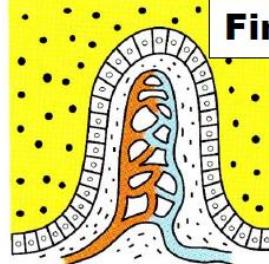
13° giorno



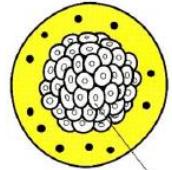
15° giorno



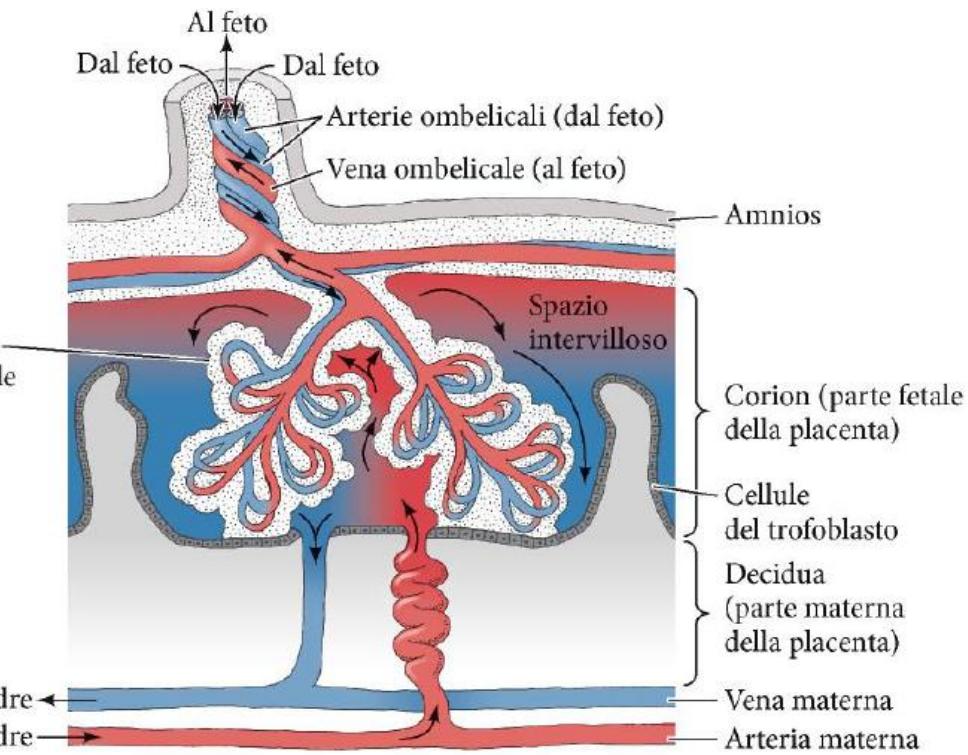
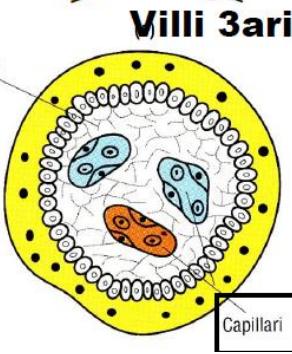
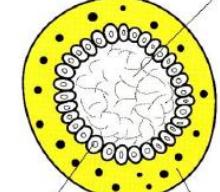
Fine 3^a settim.



Villi 1ari



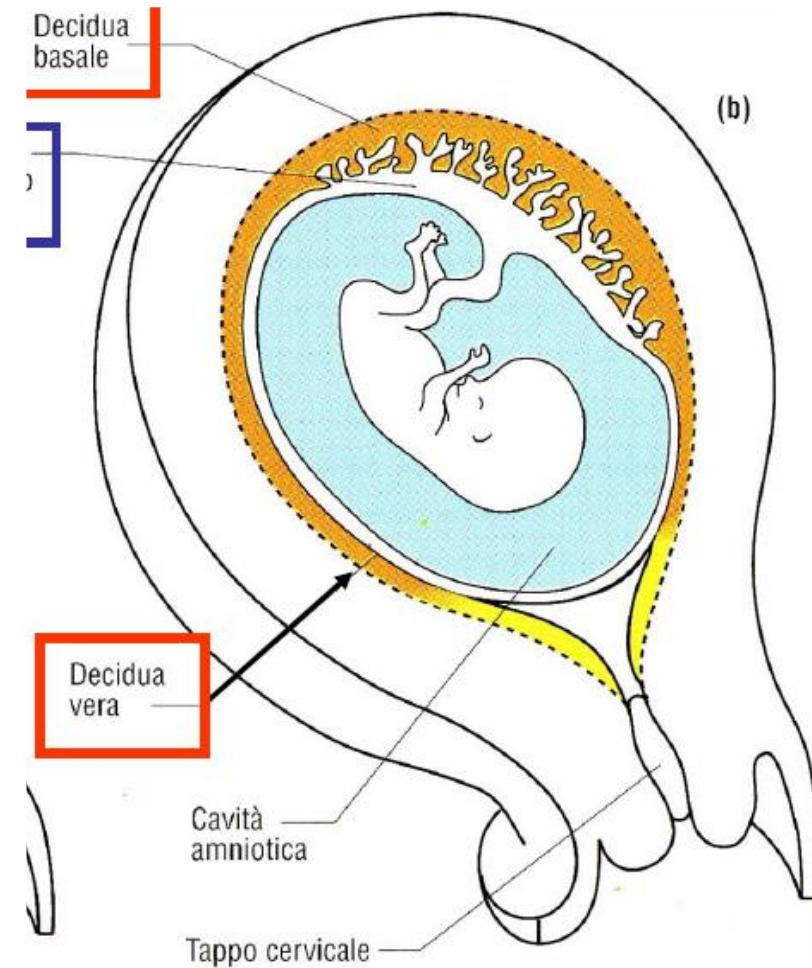
Villi 2ari



Nel terzo mese, comincia a formarsi
la placenta definitiva



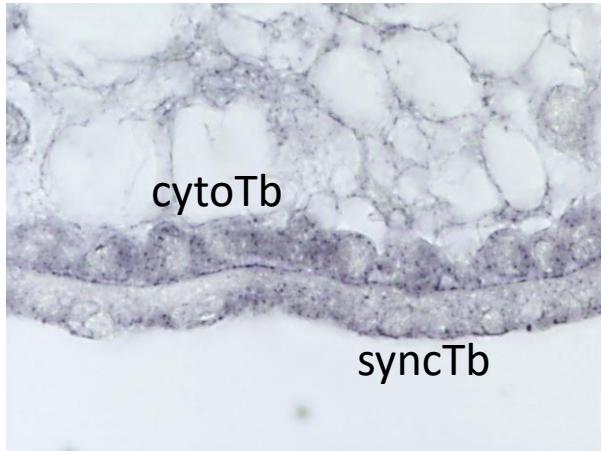
E' discoidale e occupa solo una parte del corion.



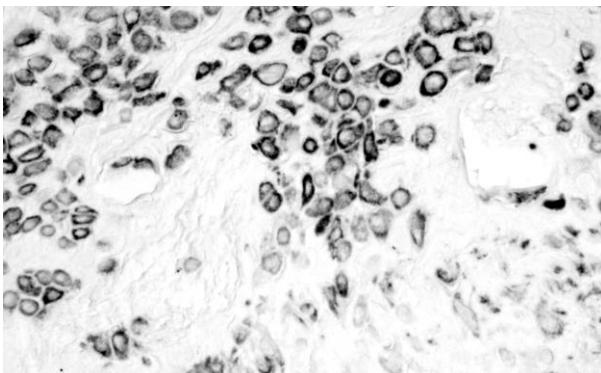


LA TOLLERANZA IMMUNOLOGICA NEI CONFRONTI DEL FETO





↓ EVT



Dal citotrofoblasto derivano anche le cellule del trofoblasto extra-villoso (EVT).
Le EVT invadono la mucosa uterina materna (*decidua*),
nel primo terzo del miometrio e nelle arterie spiralì.

Si assiste ad un'invasione INTERSTIZIALE e ENDOVASCOLARE,
per necessità di ancoraggio e rifornimento di ossigeno e nutrienti per il feto.

Quest'attività è più intensa nel primo trimestre di gravidanza
(settimane 1-12), poi in seguito declina.

Dall'inizio del secondo trimestre, il sangue materno comincia
a perfondere lo spazio intervilloso e nel sangue materno
sono rinvenibili cellule del trofoblasto distaccate dai villi placentali.



This means that during the 2nd trimester the initially local contact between fetal cells and the maternal decidua is extended to the entire body and the whole immune system of the mother comes into contact with the fetal immunogens. Nevertheless, in successful pregnancies the conceptus is tolerated and pregnancy reaches term without immunological disturbances.

LE CELLULE FETALI POSSONO STIMOLARE LA RISPOSTA IMMUNITARIA MATERNA

Normale gravidanza	<i>Graft semi-allogenico :</i>	metà-MATERNO / metà-PATERNO
Utero in affitto	<i>Graft allogenico:</i>	donazione dell'uovo + madre surrogata

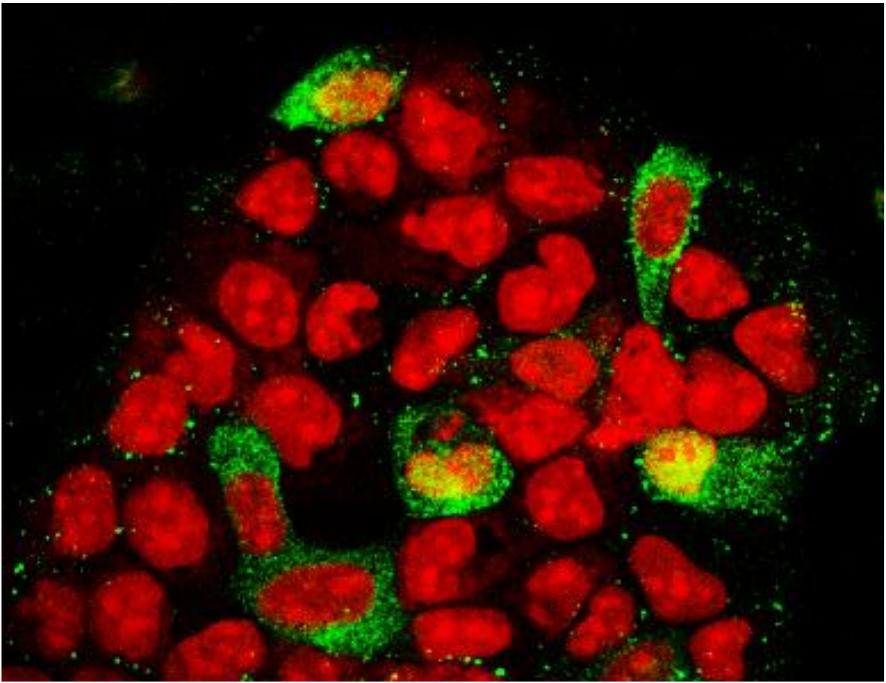
SI DEVE STABILIRE UN BILANCIO CRUCIALE

EVT

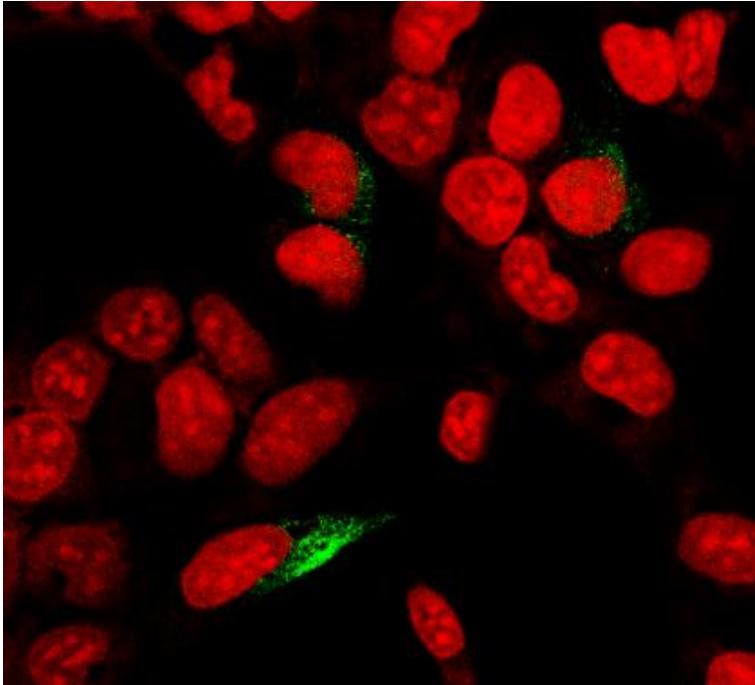
ancoraggio/nutrimento ↔ invasione

PROTEZIONE DELLA
PARETE UTERINA





Human choriocarcinoma JAR cells



HTR-8/SVneo cells

Trophoblast cell line, obtained from human first
trimester placental explant cultures
and immortalized using SV40 large T antigen



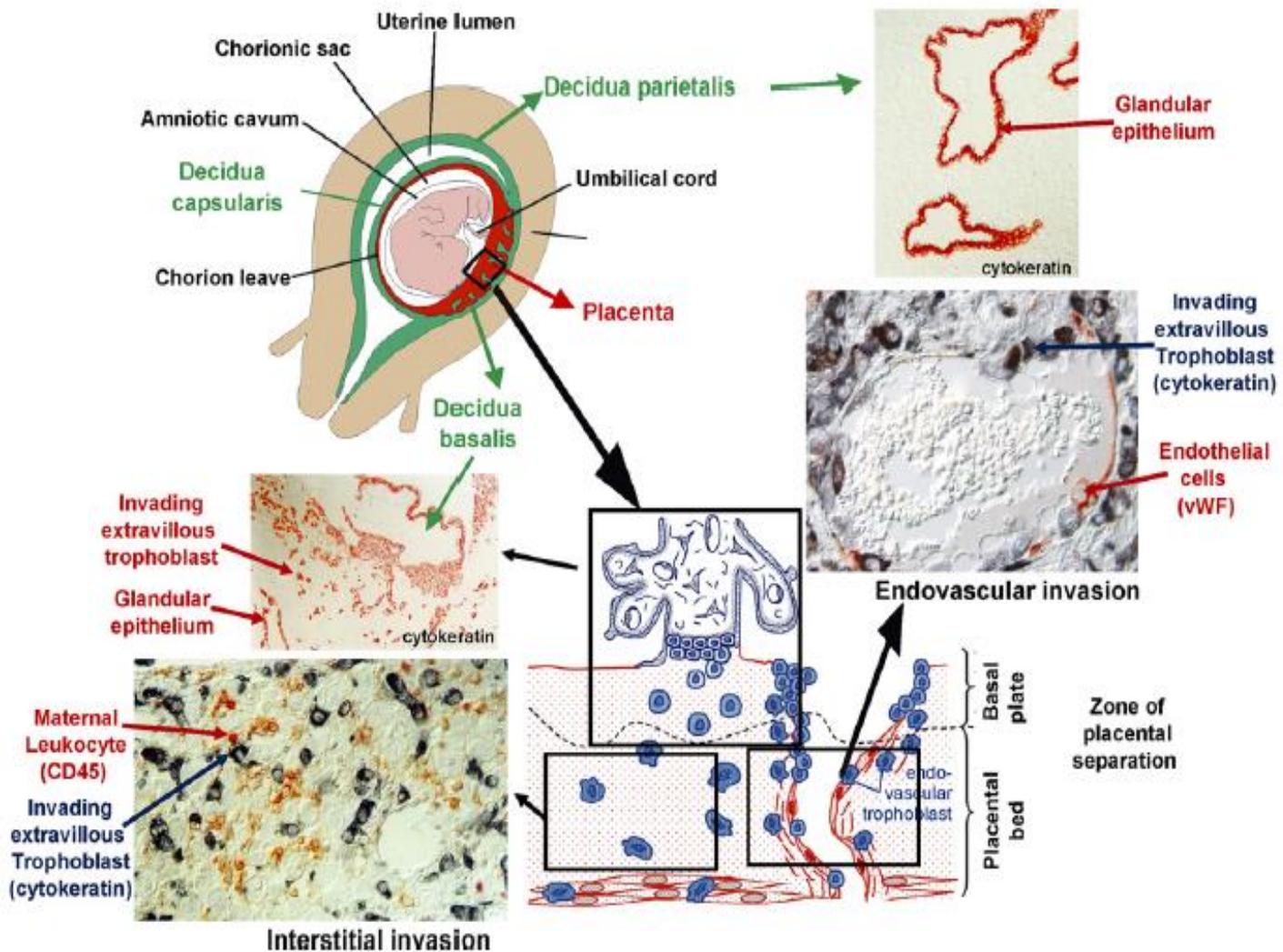


Fig. 1. The different compartments of the human implantation site are shown. The uterine mucosa of pregnancy is called decidua. According to the presence or absence of extravillous trophoblast cells (EVT) the mucosa is called decidua parietalis (not invaded by EVT) or decidua basalis (invaded by EVT). Presence of EVT – which is of epithelial origin – is shown by immunohistochemical staining of cytokeratin a cytoskeleton protein of epithelial cells and their derivatives. EVT invades the decidual stroma (interstitial invasion) and the maternal spiral arteries (endovascular invasion). The double immunohistochemical labellings show the close association of EVT (stained in blue) to the maternal stromal leucocytes and the replacement of the vascular endothelium. The part covering the chorion laeve is called decidua capsularis. Immunohistochemistry and uterine diagram: von Rango; schematic drawing of basal plate and placental bed: modified from Ref. [156].



RICONOSCIMENTO DA PARTE DI LEUCOCITI DELLO STROMA (aumentano all'inizio della gravidanza)
 I più rappresentati: cellule NK, macrofagi, cellule T CD3⁺ (CD8⁺ e rare CD4⁺)

INTERAZIONI PARACRINE

Markers di attivazione dei leucociti (perforina, granzima B, IFN γ) nella decidua sono altamente espressi durante il primo trimestre, poi decrescono.

IMMUNOLOGICAL ESCAPE DELLE EVT?
 Esprimono MHC non-classiche (HLA-G, HLA-E, HLA-C, HLA-F) per impedire il loro riconoscimento dalle cellule T e la *missing self-answer* delle cellule NK. Tuttavia, cellule NK attivate da IL-2 possono ucciderle (quindi limitare l'invasione delle EVT).

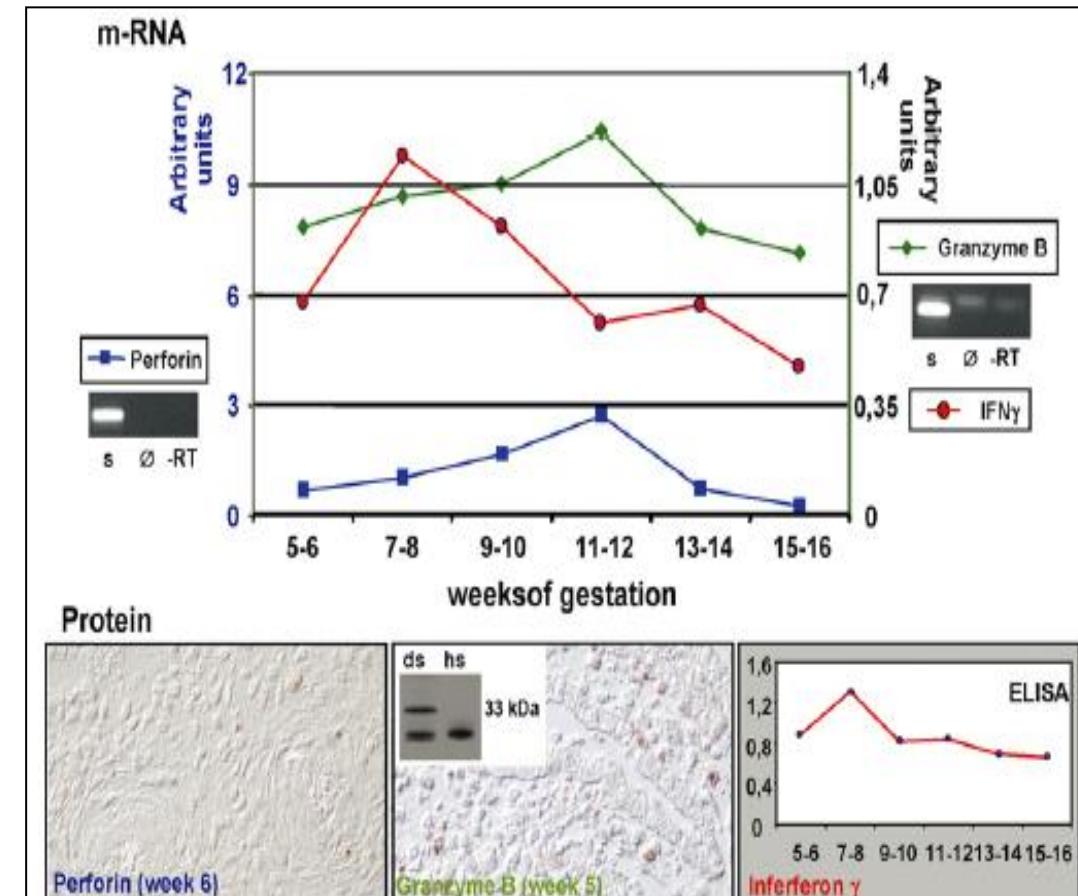
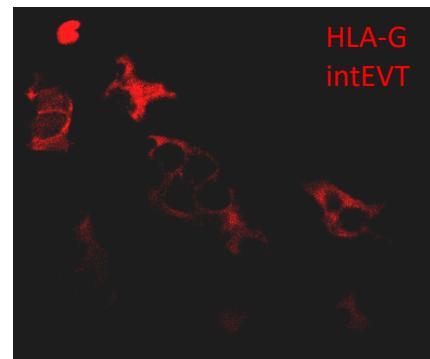


Fig. 2. Decidual mRNA and protein expression of perforin, granzyme B and IFN γ . The mRNA data are from real-time-PCR (light-cycler, Roche) in case of perforin and granzyme and from semiquantitative RT-PCR in case of IFN γ . All markers are highly expressed during the 1st trimester and decreased at the beginning of the 2nd trimester when EVT invasiveness is reduced. Protein expression of perforin and granzyme was detected by immunohistochemistry predominantly within decidual leukocytes. Granzyme was shown in decidual samples (ds) but not human serum (hs) by Western Blot. Protein expression pattern of IFN γ – shown by ELISA – confirmed the mRNA data. For methods see Refs. [58,148].



SUCCESSFUL PREGNANCY:

protective mechanisms reduce cytotoxicity

PATHOLOGY: First trimester spontaneous abortions:

increased N. of decidual and circulating CD8⁺ T cells
decreased N. of NK cells

Recurrent intrauterine abortions (endometrial tissues):

increased N. of CD8⁺ T cells

Tubal abortions vs. vital tubal pregnancies:

increased N. of CD8⁺ T cells

Pre-eclampsia (insufficient EVT invasion):

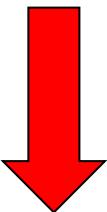
increased N. of CD8⁺ T cells
increased N. of NK cells
decreased N. of CD3⁺ T cells
decreased N. of CD68⁺ macrophages

[hyp: decrease of CD4⁺, increase of CD8⁺CD3⁻ with NK markers (NKT cells subset)]



LIMITAZIONI ALL'INVASIONE DEI TROFOBLASTI

Programma intrinseco (genetico)
Influenze paracrine dalla decidua



Riduzione della motilità
Cambiamenti nell'espressione di molecole d'adesione
Cambiamenti nell'espressione di metalloproteasi della matrice
Poliploidizzazione o fusione sinciziale (fenotipo non-migratorio)
APOPTOSI



INDUZIONE DELLA TOLLERANZA:

Primo trimestre: EVT apoptotiche

Secondo trimestre: cellule del sinciziotrofoblasto distaccate
che sono entrate nel sangue materno

MAGGIORE INCIDENZA DI ABORTI SPONTANEI:

Donne con malattie autoimmuni

Donne con infiammazione della decidua



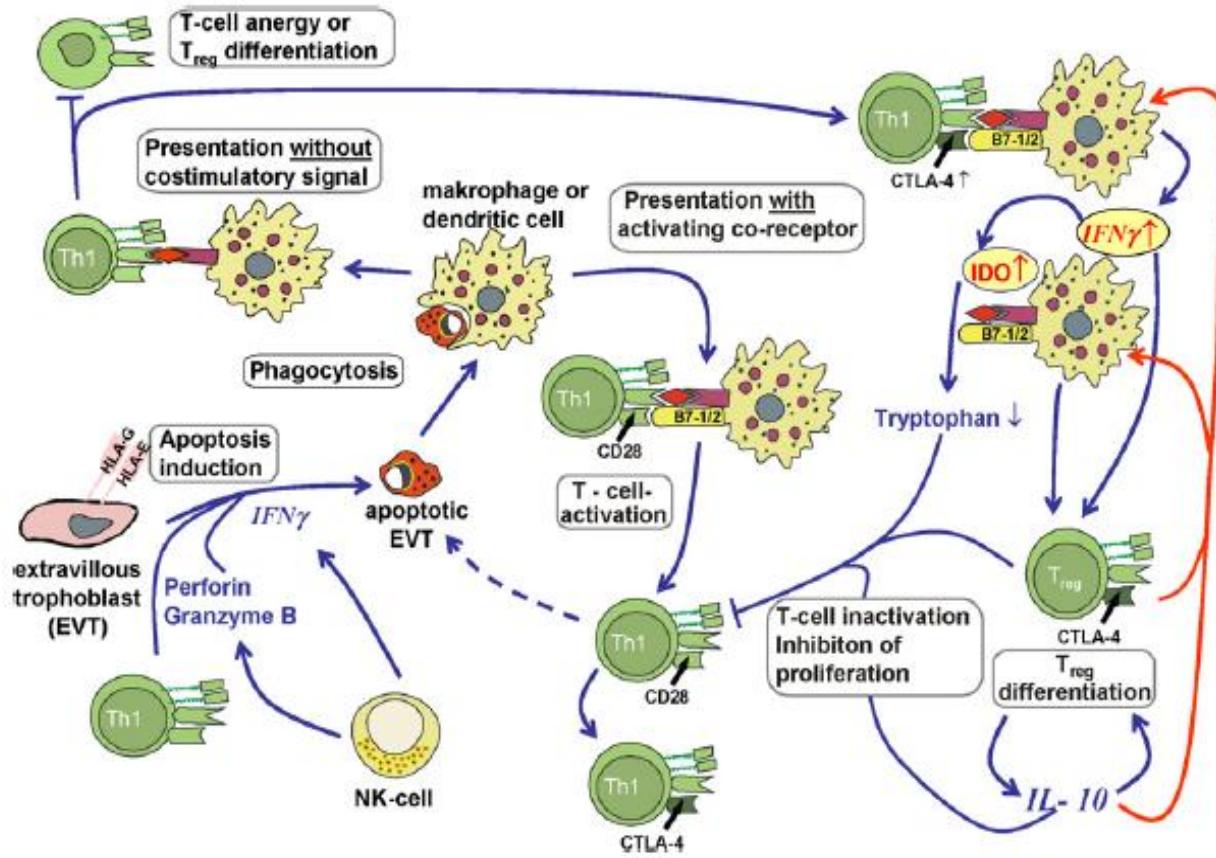


Fig. 3. Working model: Tolerance and limitation of extravillous trophoblast. T-cells express perforin, granzyme and IFN γ . Hence, extravillous trophoblast cells may be induced to undergo apoptosis within the maternal decidua. Apoptotic bodies are cross-presented to CD8 $^{+}$ T-cells with MHC class I. Under non-inflammatory conditions trophoblast peptides are presented to T-cells without inflammatory danger signal or co-stimulation. Instead of induction of a specific defense, this may result in an antigen-specific tolerance of T-cells recognizing the presented paternal peptides. CTLA-4 may be induced on the T-cells. In addition, CTLA-4 is induced on T-cells after their initial steps of TCR-receptor dependent activation by the first contact with an APC cell providing a co-stimulatory signal. This may occur within the decidual tissue too. CTLA-4 binds the B7 co-stimulatory receptor of the DC cell/macrophage resulting in an inhibitory signal to the T-cell. Binding of CTLA-4 to the co-stimulatory receptor on dendritic cells increases their expression of IFN γ . IFN γ induces autocrine up-regulation of IDO-expression in DCs not in macrophages. IDO depletes the essential amino-acid tryptophan. This causes a cessation of T-cell proliferation of activated T-cells. Besides IDO-expression, dendritic cells (DCs) are able to induce differentiation of antigen-specific T-regulatory cells (T_{reg}). T_{reg} cells, transiently needing IFN γ , inhibit the activation of effector cells via cell-to-cell contact or immunosuppressive cytokines as IL-10. In addition, T_{reg} cells induce further IDO-production in APC cells via CTLA-4 ligation, IL-10 or IFN γ expression.



Apoptosis of EVT limits uterine invasion. Peptides from apoptotic EVT cells serve as inducers to establish a local tolerance. When during the 2nd trimester fetal cells come into contact with the whole immune system this tolerance can be extended to the entire body.

This tolerance has the following characteristic properties:

1. The tolerance is balanced by the apoptosis of EVT cells to limit their invasion.
2. The tolerance is induced by the sacrifice of single apoptotic EVT cells.
3. The tolerance is antigen-specific since it is induced by the specific presentation of fetal antigens via dendritic cell. In addition, this is supported by the finding that father-matching tumor grafts are accepted during the pregnancy while “third-party” grafts are rejected.
4. The tolerance is transient, as after pregnancy father matching tumors are rejected too.
5. The tolerance induction uses general immunological mechanisms developed to maintain peripheral tolerance to self-antigens. This explains that a remission of autoimmune diseases is observed during pregnancy.



The possibility of ectopic pregnancies demonstrates on the one hand that the uterus is not the unique site allowing embryo implantation. On the other hand in tubal pregnancies EVT cells are highly invasive and cannot be stopped, which may result in life-threatening bleedings. This suggests that the local maternal (immunological) milieu of the uterus and especially of the decidua – in contrast to the tubal mucosa – regulates and limits trophoblast invasion [10,11].

Nelle gravidanze tubariche, caratterizzate da eccessiva invasione trofoblastica, sono praticamente assenti le cellule NK CD56⁺ CD16⁻.



Abstract

During human pregnancy the semi-allogeneic/allogeneic fetal graft is normally accepted by the mother's immune system. Initially the contact between maternal and fetal cells is restricted to the decidua but during the 2nd trimester it is extended to the entire body. Two contrary requirements influence the extent of invasion of extravillous fetal trophoblast cells (EVT) in the maternal decidua: anchorage of the placenta to ensure fetal nutrition and protection of the uterine wall against over-invasion. To establish the crucial balance between tolerance of the EVT and its limitation, recognition of the semi-allogeneic/allogeneic fetal cell by maternal leukocytes is prerequisite. A key mechanism to limit EVT invasion is induction of EVT apoptosis. Apoptotic bodies are phagocytosed by antigen-presenting cells (APC). Peptides from apoptotic cells are presented by APC cells and induce an antigen-specific tolerance against the foreign antigens on EVT cells. These pathways, including up-regulation of the expression of IDO, IFN γ and CTLA-4 as well as the induction of T_{regulatory} cells, are general immunological mechanisms which have developed to maintain peripheral tolerance to self-antigens. Together these data suggest that the mother extends her "definition of self" for 9 months on the foreign antigens of the fetus.

