

Received: 2004.08.09  
Accepted: 2005.02.04  
Published: 2005.03.07

## **Funkcja układu genów interleukiny 1 w procesach immunomodulacji, apoptozy i proliferacji w gonadzie męskiej**

Function of the interleukin-1 gene system in immunomodulation, apoptosis and proliferation in the male gonad

**Natalia Rozwadowska, Dorota Fiszer, Maciej Kurpisz**

Instytut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu

### **Streszczenie**

Spermatogeneza jest zjawiskiem, w którym obserwuje się bezpośrednie zetknięcie procesów proliferacji i apoptozy. Nieznaczne zachwianie w ich aktywności może prowadzić do patologii, jakim jest zaburzenie płodności (przy nadmiernej apoptozie) czy rozrost nowotworowy (zbyt duża proliferacja). Układ genów IL-1 obejmuje geny biorące udział w obu tych procesach. Do rodziny IL-1 zaliczamy: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , jak i IL-18, antagonistę receptorowego IL-1 (IL-1RA), dwa receptory IL-1RI i IL-1RII razem z receptorem IL-18 oraz cząsteczki asocjowane z receptorem IL-1 (IL-1RAcP) i IL-18 (IL-18R $\beta$ ). Ponadto do układu genów IL-1 zaliczany jest enzym dokonujący proteolitycznego cięcia IL-1 $\beta$  i IL-18 (kaspaza 1), zaangażowany bezpośrednio w proces apoptozy. Bogaty układ receptorowy IL-1 i związane z nim białkowe kaskady przekazujące sygnał pobudzają ekspresję wielu genów odpowiedzialnych za rozwój i utrzymanie odpowiedzi zapalnej. IL-1 ulega konstytutywnej ekspresji w męskim jądrze tworząc tam swoiste środowisko, w którym z diploidalnej komórki gametogenicznej powstaje haploidalny, wysoko wyspecjalizowany plemnik. IL-1 może być także elementem fizjologicznej ochrony wobec obcych dla układu odpornościowego, antygenów gonady męskiej, tworząc zjawisko immunoprzywilejowania. Przedstawiona praca przeglądowa ma podsumować bieżącą wiedzę na temat lokalnej kontroli spermatogenezy oraz mechanizmów immunomodulujących, działających w obrębie gonady męskiej. Niepłodność jest jednym z problemów wysoko rozwiniętych cywilizacji, a dokładniejsze poznanie patofizjologii męskiego układu rozrodczego wydaje się nieodzowne do podjęcia ewentualnych działań klinicznych.

### **Słowa kluczowe:**

**spermatogeneza • IL-1 • apoptoza • immunomodulacja**

### **Summary**

Spermatogenesis is a phenomenon where two main processes proliferation and apoptosis, meet. Slight changes in their activities could lead to different pathologies, such as fertility disorder (excessive apoptosis) or testicular cancer (overproliferation). The IL-1 gene family includes genes which play important roles in both these processes and consists of IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18, the IL-1 receptor antagonist (IL-1RA), two IL-1 receptors (IL-1RI, IL-1RII), the IL-18 receptor (IL-18R $\alpha$ ), and the receptor-associated proteins – IL-1RAcP and IL-18R $\beta$ . Caspase-1 (ICE – interleukin-1 converting enzyme), directly connected with apoptosis and responsible for the cleavage of IL-1 $\beta$  and IL-18, is also a member of the IL-1 family. The system of the numerous IL-1 receptors and

their signal transduction involving protein cascades provokes a range of gene expressions necessary for the initiation and maintenance of inflammatory reaction. In the testis, IL-1 is constitutively expressed, where it creates a unique microenvironment for diploid gametogenic cell conversion into specialized haploid spermatozoa. It may also be an element of the physiological protection from autoimmune attack by host testicular antigens and a part of immune privilege. This review is to summarize the knowledge of the local control of spermatogenesis and immunomodulation in the male gonad. As infertility is one of the main problems of industrialized countries, study of the pathophysiology of the male genital tract appears essential in future clinical practice.

**Key words:** spermatogenesis • IL-1 • apoptosis • immune modulation

**Full-text PDF:** [http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol\\_59/7030.pdf](http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_59/7030.pdf)

**Word count:** 6626

**Tables:** –

**Figures:** 1

**References:** 85

**Adres autora:** prof. Maciej Kurpisz, Instytut Genetyki Człowieka PAN, ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań;  
e-mail: kurpimac@man.poznan.pl

**Wykaz skrótów:** **ABP** – białko wiążące androgeny; **AcPL** – cząsteczka zasocjowana z receptorem IL-18; **Asp** – kwas asparaginowy; **AZF** – region czynnika azoospermii; **cAMP** – cykliczny adenozymonofosforan; **CIS** – rak śródnowłonkowy; **DAZ** – gen ulegający delecji w azoospermii; **DD** – domena śmierci; **FSH** – folitropina; **G-CSF** – czynnik stymulujący kolonizację granulocytów; **GnRH** – gonadoliberyna podwzgórzowa; **HSP-1** – białko szoku termicznego 1; **ICAM-1** – cząsteczka adhezji komórkowej 1; **ICE** – proteaza cysteinowa – kaspaza 1; **IL-1 $\alpha$**  – interleukina 1 alfa; **IL-1 $\beta$**  – interleukina 1 beta; **IL-18** – interleukina 18; **IL-18R $\beta$**  – łańcuch  $\beta$  receptora interleukiny 18; **IL-18R $\alpha$**  – łańcuch  $\alpha$  receptora interleukiny 18; **IL-1RA** – antagonist receptor interleukiny 1; **IL-1RacP** – cząsteczka zasocjowana z receptorem IL-1; **IL-1RI** – receptor I interleukiny 1; **IL-1RII** – receptor II interleukiny 1; **IL-2** – interleukina 2; **IL-4** – interleukina 4; **INF $\gamma$**  – interferon gamma; **IRAK1/2** – kinazy 1/2 zasocjowana z receptorem IL-1; **LH** – lutropina; **LPS** – lipopolisacharyd; **MAP kinazy** – kinazy białkowe aktywowane mitogenami; **M-CSF** – czynnik stymulujący kolonizację makrofagów; **MyD88** – białko różnicowania szpiku 88; **NF $\kappa$ B** – czynnik jądrowy  $\kappa$ B; **NIK** – kinaza indukująca NF $\kappa$ B; **NK** – naturalny zabójca; **p450scc** – kompleks enzymatyczny odcinający boczny łańcuch cholesterolu; **PGC** – macierzyste komórki gametogeniczne; **pIL-18** – prekursorowa postać interleukiny 18; **SCF** – czynnik komórek macierzystych; **TGCT** – nowotwór gonady męskiej; **TGF- $\beta$**  – transformujący czynnik wzrostu  $\beta$ ; **TIR** – motyw Toll/IL-1R; **TNF** – czynnik martwicy nowotworu; **TRAF6** – czynnik 6 zasocjowany z receptorem czynnika martwicy nowotworu; **V-CAM** – cząsteczka adhezji komórek naczyń; **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonna naczyń

## I. UKŁAD IL-1

Interleukina 1 i związany z nią system genów jest układem zaangażowanym przede wszystkim w obronę organizmu przed infekcją, jednak zgodnie z ostatnimi doniesieniami może pełnić także funkcję regulatora różnicowania i proliferacji komórek. Do układu genów IL-1 należą: interleukina 1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), interleukina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), receptor I (IL-1RI), receptor II (IL-1RII), antagonist receptorowy (IL-1RA) i konwertaza (ICE – interleukin-1 converting enzyme), zwana także kaspazą 1. Do rodziny IL-1 zalicza się również interleukinę 18 wraz z przynależnym jej systemem receptorowym. Badania prowadzone w ciągu ostatnich lat mają na celu ustalenie funkcji genów układu interleukiny 1 (IL-1) w lokalnej kontroli czynności gonady męskiej. Spermatogeneza jest zjawiskiem, w którym wy-

stępują dwa przeciwstawne procesy: proliferacja i apoptoza, a zatem interesującym wydaje się zestawienie analizy ekspresji genów układu IL-1, który w zadziwiający sposób może regulować oba te procesy.

### 1. Interleukina 1 ( $\alpha$ i $\beta$ )

Interleukina 1 jest jednym z głównych czynników stanu zapalnego. Wydzielana głównie przez makrofagi i monocyty, jest czynnikiem biorącym udział w wielu procesach biologicznych. Wśród nich można wyróżnić: stymulację proliferacji limfocytów T, różnicowanie limfocytów B, pobudzanie uwalniania czynników stymulujących kolonizację granulocytów (G-CSF) i makrofagów (M-CSF) oraz wzmaganie wydzielania histaminy i prostaglandyn. Bezpośrednim następstwem działania IL-1 jest pobudza-

nie w trakcie procesu zapalnego ekspresji białek (ICAM-1, V-CAM), odpowiedzialnych za przyleganie komórek do struktur śródbłonna naczyń krwionośnych oraz stymulacja ekspresji chemokina (np. IL-8) przez komórki tkanki łącznej. Krażące leukocyty, które natrafiają na zmieniony śródbłonek naczyń krwionośnych migrują poprzez ich ściany do wnętrza tkanki. Środowisko, które tam napotykają pre dysponuje je do rozpoczęcia reakcji zapalnej [24].

W genomie człowieka znajdują się dwa różne geny kodujące interleukinę 1: *IL-1 $\alpha$*  i *IL-1 $\beta$* , wywodzące się od wspólnego genu (*proIL-1*), które powstały prawdopodobnie w wyniku duplikacji [22]. Geny *IL-1* sklonowano w 1985 r. i zmapowano je na chromosomie 2 (2q14; 2q21). Gen *IL-1 $\alpha$*  nie ma motywu TATA typowego dla genów indukowanych, zawiera natomiast dwa promotory, bliższy -200 pz i dalszy -4,2kpz. Gen *IL-1 $\alpha$*  w odróżnieniu od *IL-1 $\beta$*  ma motyw TATA, a regiony regulatorowe tego genu znajdują się nawet do kilku tysięcy pz powyżej miejsca inicjacji transkrypcji. Białka kodowane przez obydwie geny są syntetyzowane jako białka prekursorowe o masie 31 kDa, które w wyniku działania proteaz stają się postaciami dojrzałymi o masie 17 kDa. *IL-1 $\alpha$*  i *IL-1 $\beta$*  mają tylko 26% homologii w sekwencji aminokwasów, jednakże ich struktura przestrzenna wykazuje znaczne podobieństwo, a dotyczy to w szczególności aminokwasów odpowiedzialnych za tworzenie struktur wiążących receptor. Białka prekursorowe są pozbawione sekwencji liderowych, a mechanizm ich transportu na zewnątrz komórki nie jest do końca poznany.

Enzymy odpowiedzialne za aktywację *IL-1 $\alpha$*  i  $\beta$  to odpowiednio kalpaina i ICE. W przeciwieństwie do *IL-1 $\alpha$* , druga postać *IL-1* musi zostać zaktywowana w wyniku enzymatycznego działania proteazy (ICE) na pierwotny produkt translacji. Pomimo że oba białka mają miejsca glikozylacji, proces ten nie ma wpływu na aktywność *IL-1*. Być może pełni on rolę przy wiązaniu się błonowej *IL-1* do receptorów na makrofagach [21]. Po stymulacji ludzkich monocytów przez LPS, 90% wytwarzanej *IL-1* to postać  $\beta$ . Jest ona główną postacią wydzielaną na zewnątrz komórki – pomimo braku sekwencji liderowej jest uwalniana z komórki prawdopodobnie za pomocą kompleksu kaspazy 1 i proces ten jest ściśle związany z cięciem proteolitycznym *proIL-1 $\beta$* . Źródłem *IL-1 $\beta$*  są przede wszystkim monocyty, makrofagi i komórki dendrytyczne, ale tylko podczas procesów zapalnych – komórki te (u zdrowych osobników) nie wytwarzają konstytutywnie tej cytokiny. Jednak donosi się o stałej ekspresji *IL-1 $\beta$*  w zdrowych tkankach, takich jak podwzgórze [7] czy gonada męska oraz patologicznych, takich jak nowotwory.

Natomiast większość syntetyzowanej *IL-1 $\alpha$*  pozostaje w cytoplazmie, a niewielka jej część wędruje na powierzchnię komórki, gdzie przekształca się w tzw. postać błonową [9]. Modyfikacja potranslacyjna *IL-1 $\alpha$* , dodanie reszty kwasu mirystynowego do reszty lizynowej, ułatwia transport białka na powierzchnię komórki. Pozostała pula tego białka pozostaje w cytoplazmie, nie jest oznaczalna w surowicy i w innych płynach ustrojowych z wyjątkiem ostrych stanów chorobowych, podczas których występuje zjawisko masowej śmierci komórek [80]. Interesującym wydaje się również to, iż odcinany N-koniec interleukiny 1 zawiera sekwencję liderową kierującą białko do jądra komórki. Nadekspresja tego peptydu o masie 16 kDa, w komórkach hodowanych *in*

*vitro* powodowała ich transformację w komórki nowotworowe [73], a obniżenie jego ekspresji w komórkach linii FK 506 hamowało powstawanie nowotworów indukowanych antraliną [83]. Koncepcja, że *IL-1 $\alpha$*  może być wewnątrzkomórkowym czynnikiem wzrostu uwzględnia trzy różne mechanizmy działania: [24] prekursor *IL-1 $\alpha$*  po syntezie pozostaje w komórce i wywiera bezpośredni wpływ na jej metabolizm wędrując do jądra [53], wewnątrzkomórkowa postać *IL-1 $\alpha$*  łączy się z wewnątrzkomórkowym receptorem i działa jako kompleks receptor/ligand w jądrze [41]. *IL-1 $\alpha$*  lub jej prekursor łączy się ze związanym z błoną receptorem, a następnie cały kompleks jest internalizowany i transportowany do jądra. Każdy ze scenariuszy jest poparty odpowiednimi badaniami [19]. Myszy pozbawione genu *IL-1 $\alpha$*  nie wykazują żadnych zmian w porównaniu z typem dzikim. Tak samo jak myszy z prawidłowym genotypem odpowiadają na indukcję lokalnego zapalenia poprzez iniekcję terpentyny (w odróżnieniu od myszy pozbawionych *IL-1 $\beta$* , u których stan zapalny był wygaszany i nie pojawiły się markery tego stanu). Obserwacje te wskazują, iż *IL-1 $\beta$*  a nie *IL-1 $\alpha$*  jest odpowiedzialna za odpowiedź na zaistniały stan zapalny.

## 2. Antagonista receptorowy

Antagonista receptorowy jest trzecim białkiem wiążącym się z receptorami *IL-1* (*IL-1RI* i *IL-1RII*) [23]. Część białka *IL-1RA* po związaniu się z receptorem nie powoduje powstania trimerowego kompleksu z *IL-1RAcP* i w ten sposób hamuje przekazywanie sygnału do wnętrza komórki. Istnieją trzy postacie *IL-1RA* – jedna wydzielana na zewnątrz komórki i dwie wewnątrzkomórkowe. Postacie te powstają w wyniku korzystania przez polimerazę RNA z dwóch alternatywnych promotorów (zewnątrz- i wewnątrzkomórkowy), a różne białka wewnątrzkomórkowe powstają w wyniku alternatywnego składowania transkryptu [2]. Badania porównawcze genów *IL-1 $\alpha$* , *IL-1 $\beta$*  i *IL-1RA* doprowadziły do ustalenia ich drzewa genealogicznego. Uważa się, że wszystkie te geny wywodzą się od wspólnego przodka (jego struktura pozostaje nieznaną), a jego postacie powstały na skutek częściowej duplikacji. Pierwsza z duplikacji wystąpiła około 3,5 mln lat temu i stworzyła dwa geny *proIL-1( $\alpha$  i  $\beta$ )* oraz *IL-1RA*. Druga zmiana pojawiła się około 2,8 lat temu i podzieliła *IL-1* na  $\alpha$  i  $\beta$  [22]. *IL-1RA* łączy z *IL-1 $\beta$*  26% podobieństwo sekwencji, a główna różnica polega na obecności sekwencji liderowej na N-końcu polipeptydu *IL-1RA*, pozwalającej na klasyczną sekrecję białka (przez aparat Golgiego). Gen *IL-1RA* zmapowano na długim ramieniu chromosomu 2 i ma 6 alleli. Polimorfizm ten spowodowany jest obecnością w intronie drugim różnej liczby powtórzeń odcinka 86 pz (2–6) [79], a jego występowanie skorelowano z wieloma stanami chorobowymi (nowotwory, nawracające poronienia, łysienie plackowate i wiele innych) [3].

Badania prowadzone na zwierzętach doświadczalnych wykazały, że *IL-1RA* blokuje aktywność *IL-1* zarówno *in vitro* jak i *in vivo*. Wprowadzenie do krwiobiegu królika interleukiny 1 [58], powodowało podciśnienie, któremu można było zapobiec przez wcześniejsze podanie *IL-1RA*. Podanie antagonisty receptorowego zdrowym ochotnikom nie wywoływało żadnych reakcji [34]. Wydaje się, że wszystkie komórki zdolne do ekspresji *IL-1* powinny mieć możliwość wytwarzania antagonisty receptorowego, ponadto wykry-

to ekspresję IL-1RA w zdrowych tkankach, np. nerwowej. Funkcja tego białka w niezapałnym środowisku pozostaje do wyjaśnienia. U zdrowych osób wydzielana IL-1RA w surowicy pozostaje na niskim poziomie, który drastycznie wzrasta w przebiegu wielu chorób (m. in. w ostrym zawałe mięśnia sercowego, nowotworach układu rozrodczego, w oparzeniach i innych). Jednak podawanie IL-1RA łagodziło przebieg wielu chorób indukowanych w modelach zwierzęcych (m. in. w zapaleniu stawów indukowanych oksydantami, antygenami, kolagenem; chorobie przeczczep przeciwko gospodarzowi). Stwierdzono także łagodniejszy przebieg wielu ostrych i przewlekłych chorób zapalnych przy podawaniu IL-1RA u ludzi. Obecnie trwa kilka programów badawczych z zastosowaniem IL-1RA w chorobach zapalnych (posocznica i reumatoidalne zapalenie stawów) [8].

Myszy pozbawione genu *IL-1RA* inaczej odpowiadają na dootrzewnowo podany LPS (bardziej wrażliwe od typu dzikiego), na infekcje listeriozą (mniej wrażliwe). Ciekawe jest to, że myszy te mają zmniejszoną masę w porównaniu z myszami typu dzikiego oraz z myszami pozbawionymi genu *IL-1* [41]. Myszy, u których wytworzono nadekspresję IL-1RA wykazują znacznie obniżoną wrażliwość na zapalenie stawów wywołanym kolagenem [52] a zwiększoną odporność na wywołany przez LPS szok septyczny.

### 3. Interleukina 18

Interleukina 18, początkowo zwana czynnikiem indukującym powstawanie interferonu gamma (INF- $\gamma$ -inducing factor), jest najmłodszą interleukiną zaliczaną do rodziny IL-1. Łączy ją z IL-1 nie tylko podobieństwo strukturalne, ale i funkcjonalne. Nie zawiera sekwencji liderowej, jest wytwarzana w postaci nieaktywnej (uaktywnienie następuje w wyniku trawienia kaspazą 1, podobnie jak IL-1 $\beta$ ). IL-18 indukuje ekspresję INF- $\gamma$ , TNF, IL-1, kilku chemokinin i ligandu Fas. Receptorem IL-18 jest IL-18R $\alpha$  (z rodziny receptorów IL-1), jego wspomagającym białkiem (podobnym do IL-1RAcP) jest IL-18R $\beta$  – należący również do wspomnianej rodziny. Gen *IL-18* jest umiejscowiony na chromosomie 11, natomiast gen receptora znajduje się w obrębie zespołu genów *IL-1* na chromosomie 2 [15]. Zidentyfikowano dwa promotory – pierwszy odpowiada za ekspresję indukowaną LPS, natomiast drugi jest aktywny konstytutywnie. Gen zawiera 7 eksonów, obejmuje obszar 26 kpz [46]. IL-18 jest głównie wytwarzana przez monocyty, makrofagi i keratynocyty, a wraz z IL-12 współdziała w stymulowaniu makrofagów do wytwarzania interferonu  $\gamma$  [20]. Jej oddziaływanie na komórki NK powoduje dojrzewanie, wytwarzanie cytokin i wzrost cytotoksyczności tych komórek. Interleukina 18 pełni ważną rolę w odpowiedzi immunologicznej skierowanej zarówno przeciwko czynnikom infekcyjnym jak i nowotworom, ale wydaje się również być zaangażowana w patogenезę niektórych chorób. IL-18 hamuje proliferację *in vivo* i *in vitro* komórek wielu linii nowotworowych (czerniaka, nowotworów pęcherza moczowego), jednakże transfekcja interleukiną 18 komórek linii nowotworowej AsCP-1 nie wykazywała zmniejszenia jej złośliwości. Sklonowano i scharakteryzowano naturalnie występujące białko wiążące IL-18 (IL-18BP), które neutralizuje jej działanie [56]. Podobne białka wytwarzane przez niektóre wirusy (np. ektromelia poxvirus) upośledzają wytwarzanie INF- $\gamma$  i aktywność komórek NK

w warunkach *in vitro*. Ostatnie doniesienia mówią o odkryciu IL-1H – cząsteczki wiążącej się do receptora IL-18, nie powodując jednocześnie transdukcji sygnału. Byłaby to jeszcze jedna metoda regulacji funkcji IL-18, jednak wymaga ona dalszych badań [61].

### 4. Receptory rodziny IL-1

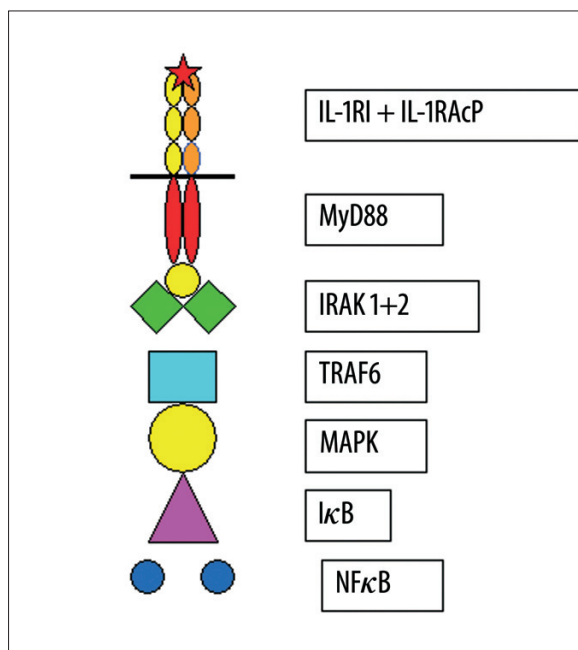
Układ receptorowy IL-1 (zalicza się do niego również interleukina 18) należy do jednych z najbardziej konserwatywnych systemów receptorowych spotykanych w świecie ożywionym (ssaki, owady, nicienie, rośliny). Receptory rodziny IL-1 zawierają wspólną domenę TIR (Toll-IL-1-receptor domain) i biorą udział w przekazywaniu sygnałów niezbędnych przy obronie organizmu przed patogenami (odporność wrodzona). Opierając się na homologii budowy, receptory można podzielić na dwie grupy: pierwsza obejmuje receptory z rodziny IL-1, które zawierają domeny immunoglobulinowe na zewnątrz komórki (IL-1RI, IL-1RII, IL-1RAcP, IL-18R $\alpha$ , IL-18R $\beta$ ), a druga zawiera receptory z grupy Toll, które w zewnątrzkomórkowej domenie zawierają powtórzenia bogate w leucynę (m.in. TLR1-6), odpowiedzialne głównie za odpowiedź na metabolity mikroorganizmów [57]. Zidentyfikowano również białko cytosolowe mające domenę TIR – MyD88 (myeloid differentiation antigen 88) oraz tzw. domenę śmierci. Pełni ono funkcję adaptorową w kaskadzie przekazującej sygnał z receptora IL-1 [10].

Dotychczas zidentyfikowano dwa geny kodujące białka receptorowe IL-1, *IL-1RI* (75 kpz) i *IL-1RII* (38 kpz) oraz jeden cząsteczki związanej z receptorem IL-1RAcP [19]. Białka należą do rodziny immunoglobulin, zawierają trzy domeny o charakterystycznej budowie przestrzennej zawierającej dwa motywy typu struktury  $\beta$  ( $\beta$  sheet) połączone mostkiem dwusiarczkowym i ulegające glikozylacji, która wydaje się podstawą w powinowactwie receptor-ligand [69]. Łańcuch polipeptydowy składa się z trzech odcinków:

- (1) zewnątrzkomórkowego – wiążącego IL-1;
- (2) przez błonowy;
- (3) wewnątrzkomórkowego – odpowiedzialnego za transdukcję sygnału.

Właśnie w trzecim odcinku występuje główna różnica w budowie IL-1RI i IL-1RII; receptor drugi ma bardzo krótki odcinek cytosolowy, niezdolny do przekazywania sygnału. Ten sam plan powtórzony został przy budowie receptorów IL-18 (IL-18 $\alpha$ ; dawna nazwa IL-1Rrp) – jest odpowiedzialny za wiązanie ligandu, a IL-18 $\beta$  (dawniej AcPL) pełni funkcje cząsteczki związanej z receptorem. Wydaje się, że IL-1RII funkcjonuje jako receptor-przynęta (decoy receptor), stanowiąc negatywny regulator aktywności IL-1, uniemożliwiający wiązanie ligandu do IL-1RI [14]. Niedawne badania ujawniły, że jest on również zdolny do tworzenia kompleksu z IL-1RAcP przez co zmniejsza jego pulę dostępną dla receptora I [49]. Ekspresja mRNA IL-1RI podlega regulacji: ujemnej przez IL-1 i dodatniej przez kortykosteroidy, nabłonkowy czynnik wzrostu, IL-4 i IL-2. Pomimo dowodów na istnienie regulacji ekspresji genu *IL-1RI*, ostatnie badania ujawniły brak w sekwencji elementów regulacyjnych TATA i CAAT oraz to, że region promotorowy IL-1RI przypomina region genów kodujących białko konstytutywne (housekeeping genes) [21]. Układ receptorowy IL-1 jest bardzo wydajny. Do wywo-





Ryc. 1. Kaskada sygnałowa receptorów rodziny IL-1; IL-1RAcP – cząsteczka zasocjowana z receptorem IL-1 (interleukin-1 receptor accessory protein); IL-1RI – receptor I interleukiny 1 (interleukin-1 receptor 1); MyD88 – białko różnicowania szpiku 88 (myeloid differentiation factor 88); IRAK1/2 – kinaza 1/2 zasocjowana z receptorem IL-1 (interleukin-1 receptor associated kinase); TRAF6 – czynnik 6 zasocjowany z receptorem czynnika martwicy nowotworu (tumor necrosis factor receptor associated factor 6); MAPK – kinaza MAP – białko aktywowane przez mitogen (mitogen activated protein kinase); IκB – inhibitor czynnika jądrowego κB (nuclear factor κB inhibitor); NFκB – czynnik jądrowy κB (nuclear factor κB)

łania efektu wystarczy zajęcie tylko 2–10% receptorów ze średnio 200 znajdujących się na powierzchni komórki [69]. Transdukcja sygnału po związaniu IL-1 i IL-18 opiera się na prawie identycznej kaskadzie wydarzeń [6]. Po związaniu liganda z receptorem następuje zmiana konformacji kompleksu i przyłączenie cząsteczki związanej z receptorem. Utworzony kompleks poprzez cząsteczkę adaptorową MyD88 i białko Tollip powoduje fosforylację IRAK – kinaz związanych z receptorem IL-1, które następnie oddziałują z czynnikiem TRAF6 (czynnikiem 6 związanym z receptorem TNF). Białko TRAF6 przekazuje sygnał poprzez NIK (kinazę związaną z NFκB) do dwóch kinaz IKK-1 i IKK-2 (kinazy IL-1-κB). Z kolei enzymy te powodują uwolnienie dwóch podjednostek NFκB (p65/p50) z kompleksu z I-κB, które są następnie transportowane do jądra i aktywują ekspresję określonych genów. Receptory rodziny IL-1 dodatkowo mogą również inicjować kaskady białek Ras/Raf z wykorzystaniem kinaz MAP i aktywować czynniki transkrypcyjne AP-1 i Elk-1 (ryc.1).

### 5. Konwertaza IL-1β i kalpaina

Obie postaci IL-1 oraz IL-18, jak wyżej wspomniano, są wytwarzane przez aparat translacyjny w postaci prekursorowej. IL-1α jest aktywna zarówno w postaci prekursora, jak i dojrzałej, natomiast IL-1β i IL-18 do swej aktywacji wymagają cięcia proteolitycznego. Cięcia dokonuje enzym

ICE (IL-1β converting enzyme). Konwertaza 1 należy do nowo odkrytej rodziny proteaz cysteinowych, które przy miejscu cięcia wymagają obecności kwasu asparaginowego [82]. W pIL-1β znajdują się dwa miejsca do działania enzymu przy Asp<sup>27</sup> i Asp<sup>116</sup>. Dojrzała IL-1β znajduje się prawie wyłącznie poza komórką, więc prawdopodobnie trawienie enzymatyczne jest połączone z uwalnianiem tej cytokiny. ICE złożony jest z dwóch podjednostek p20 i p10 tworzących heterodimer, obie jednostki powstają przez autoproteolizę proenzymu (45 kDa). Z użyciem analizy krystalograficznej ustalono, że aktywny kompleks enzymatyczny powstają z dwóch związanych z błoną komórkową heterodimerów, tworzących tetramer, obróconych w stosunku do siebie o 180°. ICE jest kodowany przez pojedynczy gen (*il-1bc*) o długości około 10,5 kb i złożony z dziewięciu intronów i 10 eksonów, które w genomie ludzkim zlokalizowano na chromosomie 11 [12]. Gen nie zawiera sekwencji typu TATA ani CAAT, zawiera natomiast inne sekwencje regulacyjne (np. miejsce wiązania NFκB). Transkrypty ICE powstają na skutek alternatywnego składania, tworząc pięć różnych cząsteczek mRNA, które mogą ulegać translacji do pięciu izoform białkowych. Do tej pory nie udało się ustalić funkcjonalnego znaczenia istnienia różnych postaci ICE. Gen konwertazy IL-1β ulega konstytutywnej ekspresji w monocytach. Jako proenzym znajduje się w cytoplazmie, a jako aktywny enzym w błonie komórkowej.

ICE wykazuje znaczną homologię (28%) do rodziny genów *ced-3* (występujących u nicieni *C. elegans*), których produkty są niezbędne w procesie apoptozy. Wysłunięto hipotezę, że ICE jest odpowiednikiem Ced-3 u ssaków. Doświadczenia prowadzone przez różnych autorów wykazały, że w zależności od warunków przeprowadzanych badań, zablokowanie aktywności enzymatycznej ICE hamowało apoptozę, bądź nie [12,13,17]. Obserwację prowadzone na myszach „knock-out” z „wyłączonym” genem kodującym ICE umożliwiły poznanie funkcjonowania tego enzymu. Myszy takie miały znacznie obniżoną zdolność do wytwarzania dojrzałej IL-1β (95%), poza tym były płodne i nie miały wad rozwojowych. Interesującym jest, że myszy te miały także znacznie obniżony poziom (prawie 90%) IL-1α (po stymulacji LPS), co tłumaczono istnieniem nowego, niepoznanego do tej pory, mechanizmu transportu IL-1α na zewnątrz komórki. Tymocyty izolowane ze wspomnianych wyżej myszy „knock-out”, w odróżnieniu od tymocytów myszy typu dzikiego, nie odpowiadały apoptozą na stymulację przeciwciałami anti-Fas.

Następnym krokiem było wyhodowanie szczepu myszy, które charakteryzowały się nadmiernym wytwarzaniem (overexpression) ICE. Z powodu częstej letalności płodów nie udało się uzyskać osobników z nadekspresją ICE we wszystkich tkankach. Myszy z dużą ekspresją ICE tylko w keratynocytach (tylko heterozygoty – homozygoty były letalne) wykazywały chroniczne zapalenie skóry, owrzodzenia, deformacje uszu i powiek. Badania potwierdziły, że zmiany te były spowodowane zwiększoną apoptozą. Myszy te mają znacznie wyższy poziom IL-1β i IL-18 niż myszy kontrolne [84].

### II. MĘSKI UKŁAD ROZRODCZY

W skład męskiego układu rozrodczego wchodzi następujące narządy: gonady męskie, najądrza, nasieniowody,

dotatkowe gruczoły płciowe (pęcherzyki nasienne, gruczoł krokowy, gruczoły opuszkowo-cewkowe) i narząd kopulacyjny.

## 1. Gonada męska

Gonada męska złożona jest z dwóch struktur: tkanki śródmiąższowej i kanalików nasiennych. Przestrzeń pomiędzy kanalikami nasiennymi jest bogata w naczynia krwionośne i limfatyczne oraz zawiera komórki gruczołu śródmiąższowego jądra – komórki Leydiga (tkanka śródmiąższowa) [76]. Tkanka śródmiąższowa jest miejscem sekrecji hormonów steroidowych i czynników polipeptydowych uwalnianych do krwi oraz przekazywanych przez tkankę graniczną do przedziału przypodstawnego kanalika nasiennego. Komórkom Leydiga towarzyszą makrofagi, które stanowią 20% komórek tkanki śródmiąższowej a ich rola polega na modulowaniu (poprzez wydzielanie cytokin) sekrecji testosteronu [38,51].

Kanaliki nasienne są otoczone warstwą graniczną utworzoną z kilku warstw komórek mioidalnych. Komórki mioidalne stykają się ze sobą połączeniami typu zamykającego i przylegania, które stanowią otwarte przestrzenie międzykomórkowe o szerokości około 200 Å, co sprawia, że odgrywają one rolę filtra ograniczającego przechodzenie substancji ze śródmiąższu do nabłonka plemnikotwórczego. Wewnątrz kanalika na błonie podstawnej spoczywają komórki podporowe – Sertolego, ich cytoplazma sięga aż do światła kanalika a wypustki wypełniają przestrzenie między komórkami gametogenicznymi. Łączące się ze sobą wypustki tworzą połączenia ścisłe (tight junctions) dzielące nabłonek plemnikotwórczy na dwa przedziały: przypodstawni, w którym znajdują się komórki wczesnych stadiów różnicowania (spermatogonia, spermatocyty preleptotenne) i adluminalny, w którym komórki rozrodcze ulegają dalszemu różnicowaniu.

Barierę krew-jądro tworzą trzy składowe: 1) ciągły nabłonek naczyń krwionośnych włosowatych, 2) błona graniczna utworzona przez komórki mioidalne, 3) ścisłe połączenia pomiędzy wypustkami komórek podporowych. Rola bariery jest szczególnie istotna w immunologicznych oddziałyvaniach w gonadzie oraz w mechanizmach hormonalnej i lokalnej kontroli spermatogenezy.

Błona graniczna utworzona przez komórki mioidalne, włókna kolagenowe i błonę podstawną pełni funkcję filtra. Z dokładniejszych badań komórek mioidalnych wynika, że uczestniczą one bezpośrednio w aktywnym transporcie substancji (liczne wakuole, enzymy transportu aktywnego) między śródmiąższem a wnętrzem kanalika.

Ścisłe połączenia między wypustkami komórek Sertolego, stanowiące szczelną barierę tkankową, tworzą przedziały czynnościowe kanalika plemnikotwórczego. Przedział przypodstawni jest zasiedlony przez komórki macierzyste, proliferujące spermatogonie oraz tzw. preleptoteny, czyli spermatocyty I rzędu replikujące DNA do późniejszego podziału mejotycznego. Przedział ten nie jest bezwzględnie szczelny i znaczniki pasażu, takie jak ferrytyna czy peroksydaza chranowa przenikają przez tkankę graniczną, przestrzenie międzykomórkowe aż do połączeń między komórkami podporowymi. W połączeniach tych do-

chodzi do zespolenia zewnętrznych warstw sąsiadujących ze sobą błon. Powyżej połączeń, w kierunku światła kanalika, tworzy się przedział adluminalny, w którym znajdują się spermatocyty I rzędu w zygotenie, spermatocyty II rzędu i spermatydy.

Komórki Sertolego oprócz tworzenia przedziałów czynnościowych w kanaliku nasiennym pełnią wiele innych funkcji, takich jak: 1) funkcja podporowa, 2) współdziałanie w transformacji spermatyd w plemniki i w spermacji, 3) fagocytoza ciałek resztkowych i komórek ulegających apoptozie, 4) funkcja komórek docelowych FSH i androgenów, 5) wytwarzanie inhibiny i aktywiny, 6) udział w miejscowym mechanizmie regulacji spermatogenezy [51].

## 2. Nowotwory gonady męskiej

Nowotwory gonady męskiej – TGCT (testicular germ cell tumor) są najczęściej występującym typem nowotworów wśród mężczyzn pomiędzy 15 a 35 rokiem życia. W ciągu ostatnich lat liczba zachorowań na nowotwory w krajach wysoko uprzemysłowionych dramatycznie wzrosła i osiągnęła poziom prawie 5500 tys. i 600 przypadków (odpowiednio w USA i Polsce) nowych zachorowań rocznie [70]. Zarówno badania epidemiologiczne, jak i poznanie markerów komórkowych jako pierwotnych w stosunku do inwazyjnego guza, wskazują na uszkodzenie typu *carcinoma in situ* (CIS) powstałe w czasie życia płodowego lub przed pokwitaniem. Uszkodzenie to dotyczy różnicowania pierwotnych komórek rozrodczych (PGC – primordial germ cells) lub gonocytów i może być wywoływane przez duże stężenie estrogenów w okresie płodowym [75]. Jako inne przyczyny zwiększonego ryzyka zachorowania podaje się choroby zakaźne: świnkę i krztusiec, wnetrostwo oraz silne wymioty ciężarnych [62]. Analiza rodowodów przeprowadzona przez Heimdala i wsp. [40] udowodniła, że rodzinna postać TGCT może mieć podłoże genetyczne. Zaproponowano recesywny model dziedziczenia genu o stosunkowo wysokiej częstości (4%), predysponującego w połączeniu z innymi czynnikami genetycznymi oraz środowiskowym, do powstawania guza.

Molekularne podstawy procesu powstawania nowotworów są przedmiotem intensywnie prowadzonych badań. Na uwagę zasługują białka czynników wzrostu, białka uczestniczące w apoptozie i różnicowaniu czy regulujące cykl komórkowy. W gonadzie męskiej ze względu na jej charakterystykę ulega ekspresji wiele genów odpowiedzialnych za kontrolę podziałów i różnicowania komórek [18].

Wśród białek podejrzewanych o zaangażowanie w proces tworzenia TGCT wymienia się SMAD4, TGF- $\beta$ , aktywinę, inhibiny, VEGF. Proces rozrostowy bardzo często jest łączony z chronicznym stanem zapalnym (np. rak żołądka), którego głównym mediatorem jest system IL-1. Ekspresję genów systemu IL-1 obserwuje się w wielu nowotworach, a ich funkcja jest przedmiotem intensywnie prowadzonych badań. Przypisuje im się promowanie angiogenezy i stymulację przerzutów, a także udział w stymulacji podziałów komórkowych.

## 3. Bloki dojrzewania gamet – azoospermia

Terminem azoospermii określa się brak plemników w ejakulacie, a choroba ta dotyka około 2% mężczyzn. Przyczyny

braku gamet w nasieniu dzieli się na przedjądrowe (np. zaburzenie hormonalne), jądrowe (np. wnętrstwo, zapalenie jąder, zespół samych komórek Sertolego) i pozajądrowe – najczęściej zablokowanie dróg wyprowadzających (azoospermia obstrukcyjna). Azoospermia bez zamknięcia dróg wyprowadzających dzieli się ze względu na rysunek histologiczny na: zespół samych komórek podporowych, przedmeiotyczny lub postmeiotyczny blok spermatogenezy, zablokowanie dojrzewania gamet i hipospermatogenezę. W ostatnich latach odnotowuje się wzrastającą liczbę pacjentów z azoospermią, u których wykrywa się wady w powiązanych z niepłodnością genach, ważnych dla różnych etapów różnicowania gamet [29]. Genami kandydatami są: gen receptora androgenów, geny kodujące FSH i LH oraz geny zaangażowane w regulację spermato- i spermiogenezy. Najbardziej zbadanym jest region AZF (azoospermia factor region) znajdujący się na chromosomie Y. Delecje w tym regionie związane są z występowaniem zaburzeń spermatogenezy [42]. Region ten zawiera duże sekwencje palindromowe odpowiedzialne za rekombinację homologiczną. Na chromosomie Y zlokalizowano rodzinę genów *DAZ*, które również ulegają delecji w azoospermii. Geny te kodują białka, których funkcja polega na wiązaniu RNA [1]. Analiza mitochondrialnego DNA ujawniła, że również geny z pozajądrowego DNA mogą brać udział w powstawaniu niepłodności męskiej, która jest następnie przekazywana poprzez płeć żeńską [68]. Dzięki zastosowaniu technik biologii molekularnej badanie niepłodności zmieniło się z badań nasienia w analizę wad o podłożu genetycznym. Poznanie przyczyn molekularnych będzie stanowiło podstawę rozwoju określonych schematów diagnostycznych, a w przyszłości również i leczenia. Gen *IL-1* jako czynnik uczestniczący w proliferacji komórek i apoptozie jest jednym z genów kandydatów.

### III. PROCESY ZACHODZĄCE W GONADZIE MĘSKIEJ

#### 1. Spermatogeneza

Spermatogeneza to proces podziałów i różnicowania komórek gametogenicznych, w wyniku którego powstaje dojrzała gameta męska. W procesie tym można wyróżnić trzy podstawowe etapy: 1) proliferacji i odnowy układu macierzystych komórek plemnikotwórczych, 2) podziału meiotycznego spermatocytów, 3) transformacji spermatyd w plemniki – spermiogenezy. W wyniku spermiacji plemniki uwalniają się z nabłonka plemnikotwórczego.

##### 1.1. Kontrola hormonalna czynności jądra

Regulacja spermatogenezy przez hormony osi podwzgórzowo-przysadkowo-gonadalnej jest stosunkowo dobrze poznana. U zdrowego mężczyzny acyklicznie uwalniana gonadoliberyna podwzgórzowa (GnRH) powoduje pulsacyjne wydzielanie przez przysadkę luteiny (LH) i folitropiny (FSH). Uwalnianie GnRH i LH jest ujemnie zwrotnie sprzężone ze stężeniem androgenów we krwi. Duże stężenie androgenów powoduje zahamowanie wydzielania GnRH i hormonu luteinizującego. Uwalnianie FSH jest uzależnione od wydzielania przez komórki Sertolego aktywiny, pobudzającej przysadkę do sekrecji FSH oraz inhibiny hamującej wytwarzanie folitropiny. LH działa na komórki Leydiga, które odpowiadają syntezą testosteronu. Hormon luteotropowy łącząc się ze swoim recepto-

rem na powierzchni komórek śródmiaższowych aktywuje układ cyklicznej adenylowej i poprzez wzrost stężenia cAMP umożliwia steroidogenezę, i w efekcie syntezę testosteronu. Testosteron ma szeroki zakres działania na procesy związane z rozrodem:

- wpływa wraz z estrogenami i prolaktyną na aktywność wydzielniczą gruczołów płciowych dodatkowych;
- uczestniczy w kształtowaniu drugorzędowych cech płciowych;
- wpływa na regulację temperatury gonady przez oddziaływanie na mięśnie dźwigacze jąder;
- reguluje behavior seksualny u samców;
- ma wpływ na zatrzymanie wody i elektrolitów w organizmie;
- jest działającym na zasadzie parakrynej, regulatorem czynności komórek podporowych [85].

Działanie testosteronu polega głównie na stymulacji syntezy białek w komórkach docelowych. Hormon ten po wniknięciu do komórki jest zamieniany na dihydrokystestosteron i po połączeniu z białkiem receptorowym migruje do jądra i indukuje poprzez inne czynniki transkrypcyjne ekspresję określonych genów. Według McLachana i wsp. [54] testosteron ma być czynnikiem kontrolującym mejozę, transformację spermatyd oraz przyleganie komórek gametogenicznych do komórek Sertolego. Komórki podporowe nie mają na swojej powierzchni receptora LH, mają jednak receptor FSH. Związanie folikulotropiny z receptorem powoduje, że komórki te inicjują syntezę estrogenów, białka wiążącego androgeny (ABP – androgen binding protein) oraz inhibiny. Proces tworzenia estrogenów rozpoczyna się od związania receptora i poprzez cAMP zwiększenia aktywności aromatazy. Aromataza z kolei odpowiada za syntezę estradiolu z testosteronu pochodzącego z komórki Leydiga. Regulacja wydzielania estrogenów opiera się na zasadzie tzw. krótkiej pętli regulacyjnej. Wydzielane estrogeny wpływają na komórki śródmiaższu i regulują proces steroidogenezy. FSH przypisuje się rolę hormonu stymulującego podziały, obniżającego odsetek komórek poddanych apoptozie i pobudzającego różnicowanie spermatogonii. Do prawidłowej czynności nabłonka plemnikotwórczego u człowieka niezbędne jest wydzielanie obu hormonów przysadkowych.

##### 1.2. Lokalny system regulacyjny

Mechanizmy lokalnego systemu regulacyjnego w gonadzie męskiej mają na celu bezpośrednią kontrolę spermatogenezy, ponieważ komórki gametogeniczne nie mają receptorów hormonów przysadkowych ani dla androgenów. Przekazywanie sygnałów, wymaganych na poszczególnych etapach spermatogenezy, odbywa się dzięki komórkom podporowym. Komunikowanie się komórek jest oparte na zasadzie jukstakrynowej i kryptokrynowej. Pierwsza z nich oznacza interakcję glikoproteidów błonowych komórek Sertolego z receptorami powierzchniowymi komórek gametogenicznych, natomiast komunikacja kryptokrynowa obejmuje czynniki para- i autokrynowe wydzielane przez komórki. Identyfikacja czynników lokalnego systemu regulacyjnego stanowi wciąż trudny problem badawczy. Główną przyczyną trudności jest niewielkie wydzielanie peptydów regulacyjnych oraz periodyczność ich syntezy. Peptydowe czynniki para- i autokrynowe wydzielane w obrębie jądra obejmują: 1) czynniki wzrostu, 2) produkty pro-



toonkogenów, 3) cytokiny. Czynniki wzrostu to substancje białkowe, które wykazują stymulujący wpływ na podziały, wzrost i różnicowanie komórek. Gonada męska jest miejscem syntezy wielu czynników wzrostu zarówno tkankowo-swoistych jak i działających w innych tkankach. Do czynników charakterystycznych gonady zaliczamy:

- plemnikotwórczy czynnik wzrostu (SGF – sperm growth factor);
- substancję hamującą rozwój przewodu Mullera (MIS);
- czynnik wydzielany przez komórki okołokanalikowe, modulujący funkcję komórek Sertolego (czynnik P-Mod-S).

Czynnikom tym, ciągle niedostatecznie poznanym, przypisuje się m.in. rolę w: regresji przewodu Mullera w zarodku (MIS), wspomaganie proliferacji komórek Sertolego (SGF), modulowanie interakcji pomiędzy komórkami Sertolego a Leydiga (P-Mod-S).

Czynniki znane z wcześniejszych badań, których aktywność odkryto w gonadzie to:

- transformujący czynnik wzrostu  $\alpha$  i  $\beta$  (TGF);
- insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF);
- czynnik wzrostu naskórka (EGF);
- czynnik wzrostu fibroblastów (FGF);
- polipeptyd przysadkowy aktywujący cyklazę adenylową (PACAP).

Cząsteczki te mają szeroki zakres działania na procesy zachodzące zarówno w śródmiaższu jak i w nabłonku plemnikotwórczym. Z roku na rok wzrasta liczba poznanych czynników, od których zależy jakość i wydajność procesu spermatogenezy i procesów jej towarzyszących, a także poszerza się wiedza na temat powiązań między nimi [48].

Protoonkogeny to grupa genów, których zmutowane formy (onkogeny) biorą udział w procesie nowotworzenia. Białka kodowane przez protoonkogeny mają wiele różnych funkcji, najczęściej identyfikowane produkty tych genów to: czynniki wzrostowe, receptory czynników wzrostowych, enzymy typu kinaz, białka G biorące udział w transmisji sygnału wewnątrzkomórkowego, regulatory transkrypcji. Aktywność transkrypcyjna poszczególnych protoonkogenów w jądrze (np. *c-mos*, *c-kit*, *A-raf*) wydaje się tkankowo-swoista. Charakterystyczne jest także to, że ekspresja mRNA, określonego protoonkogenu, związana jest z określonym stadium zróżnicowania nabłonka plemnikotwórczego (np. mRNA *c-mos* jest obecny w postmeiotycznych spermatocytach i okrągłych spermatydach) [45].

### 1.3 IL-1 a spermatogeneza

Doświadczenia prowadzone przez różne zespoły badawcze ujawniły, że IL-1 pełni istotną rolę w gonadzie męskiej. Wyniki uzyskane do tej pory opierają się przede wszystkim na modelach zwierzęcych (myszy, szczury), a tylko nieliczne prace odnoszą się do człowieka [43]. Pierwszym sygnałem o roli IL-1 w odniesieniu do gonady męskiej było odkrycie zdolności ekstraktu gonady szczura do wywołania proliferacji tymocytów, co jest charakterystyczne dla IL-1. Na podstawie właściwości biochemicznych ustalono, że tIL-1 (testicular IL-1) jest identyczna z IL-1 $\alpha$  [63]. Stwierdzono, że oba czynniki ulegają ekspresji w wewnątrzkanalikowym, jak i zewnątrzkanalikowym przedziale ją-

dra u gryzoni, a poziom IL-1 zależy od wieku zwierząt i wzrasta wraz z dojrzewaniem płciowym, następnie zaś synteza pozostaje na stałym poziomie [71].

Sugeruje się, iż IL-1 pełni rolę parakrynnego regulatora wzrostu i różnicowania komórek gametogenicznych podczas spermatogenezy. Badania przeprowadzone do tej pory pozwoliły ustalić, że tIL-1 wywołuje spadek aktywności FSH-zależnej aromatazy oraz obniżenie poziomu cAMP. U szczurów, u których nabłonek plemnikotwórczy wykazuje cykliczność stadiów dojrzewania, zaobserwowano znacznie obniżony poziom bioreaktywności/stężenia IL-1 w stadium VII nabłonka. Interesującym jest, że właśnie na tym etapie nie występują spermatogonie replikujące DNA. Inne doświadczenia oparte na obserwacji regeneracji nabłonka plemnikotwórczego potwierdziły, że najsilniejsza aktywność IL-1 występuje synchronicznie ze wzmożoną syntezą DNA [37]. Wewnątrz kanalika dominuje ekspresja IL-1 $\alpha$  natomiast w tkance śródmiaższowej intensywniejszej ekspresji ulega IL-1 $\beta$  [67].

Wcześniejsze prace donosiły o bardzo małej gęstości występowania receptora dla IL-1 we wnętrzu kanalika plemnikotwórczego u gryzoni [77]. Może to sugerować, iż w przedziale wewnątrzkanalikowym następuje inny system przekazu bodźca niż w tradycyjnym układzie receptorowym (efekt na komórki docelowe) lub też wskazuje to na wewnątrzkomórkową funkcję IL-1 $\alpha$  [4]. Badania prowadzono metodą RT-PCR w próbkach pochodzących od szczura, myszy i człowieka oraz we frakcjach składających się z komórek Leydiga, Sertolego, spermatocytów, spermatyd, a w kontroli pozytywnej – z makrofagów. Analiza wykazała, że zarówno w komórkach mysich jak i szczurzych, w każdej z tych frakcji komórkowych dochodziło do ekspresji genów IL-1RI i IL-1RII. W komórkach ludzkich wówczas niezidentyfikowano transkryptów tych genów (w spermatydach i spermatocytach), podczas gdy były one obecne w komórkach Sertolego i Leydiga. Także Gomez i Morel ocenili, że w przedziale wewnątrzkanalikowym dochodzi do słabej ekspresji genu dla IL-1RI [32].

Doświadczenia prowadzone *in vitro* wskazują, że ludzkie komórki Leydiga mogą być źródłem dla obu postaci interleukiny. Jednocześnie sugeruje się, że IL-1 ma hamujący wpływ na LH-zależną syntezę testosteronu przez komórki Leydiga. Spadek ten może być wywołany poprzez: obniżenie wiązania lutropiny do receptora, zmniejszenie hCG-zależnej syntezy cAMP oraz zmniejszenie poziomu enzymu P450<sub>scc</sub> (cholesterol side-chain cleavage cytochrome p450). Ten ostatni rozpoczyna łańcuch reakcji chemicznych prowadzących do powstania testosteronu [81]. Interesującym jest to, że pomimo iż obie postaci IL-1 łączą się z tym samym receptorem, stymulacja szczurzych komórek: ludzką rhIL-1 $\alpha$ , ludzką rhIL-1 $\beta$  i mysią rhIL-1 $\alpha$  wywoływała różne efekty. Najniższą efektywność w obniżaniu poziomu testosteronu wykazała ludzka IL-1 $\alpha$  [11]. Dotychczasowe doświadczenia potwierdziły, że oba receptory IL-1 ulegają ekspresji (na poziomie mRNA) w gonadzie męskiej. Komórki pochodzące z tkanki śródmiaższowej, charakteryzują się wysokimi poziomami ekspresji IL-1 $\beta$  i IL-1RA i niskim poziomem IL-1 $\alpha$ . Już wcześniej autorzy stosujący nieilościowe metody oznaczania ekspresji genu obserwowali podobne zależności [26]. W tkance śródmiaższa znajduje się dość liczna populacja makrofagów jądrowych,



które wydają się wpływać na fizjologiczne czynności komórek Leydiga. Wspólnie ze znajdującymi się w gonadzie limfocytami mogą współtworzyć specyficzne mikrośrodowisko sprzyjające prawidłowej spermatogenezie [38]. W doświadczeniach *in vitro* wykazano bezpośredni wpływ IL-1 $\beta$  na komórki Leydiga, który okazał się niejednoznaczny (stymulacja/inhibicja steroidogenezy). Dokładniejsze badania ujawniły odmienny wpływ różnych postaci IL-1 (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  oraz wariantów alternatywnego składania 24proIL-1 $\alpha$  i 32proIL-1 $\alpha$ ). Wszystkie powodowały stymulację podstawowej syntezy testosteronu, ale za to hamowanie stymulowanego przez hCG/LH, wydzielania testosteronu. Wyjątkiem okazała się cząsteczka o masie 24 kDa, która także w innych doświadczeniach korzystnie wpływała na syntezę tego hormonu. IL-1 powoduje także proliferację niedojrzałych komórek interstycjalnych [74].

## 2. Apoptoza

### 2.1. Apoptoza w spermatogenezie

Apoptoza jawi się w jądrze jako ważny czynnik ograniczający liczbę komórek gametogenicznych w nabłonku plemnikotwórczym. Komórki Sertolego, które regulują proliferację i różnicowanie komórek gametogenicznych są prawdopodobnie odpowiedzialne za kierowanie tychże komórek na drogę apoptozy. Uważa się, że za regulację apoptozy odpowiedzialny jest w gonadzie układ Fas/FasL, jednak jak dotąd nie udało się ustalić jednego zgodnego modelu. Początkowo uważano, że FasL ulega ekspresji w komórkach Sertolego, a Fas w komórkach gametogenicznych [50]. Jednak niedawne doniesienia mówią o ekspresji FasL na powierzchni plemnika, a o jego braku w komórkach podporowych [65]. Różnice najprawdopodobniej wynikają z różnic pomiędzy spermatogenezą ludzką a spermatogenezą gryzoni, które są głównym obiektem badań tego procesu. W fizjologicznej apoptozie, pojawiającej się jako naturalny mechanizm (niespowodowanej podaniem toksyn, promieniowaniem czy utratą SCF), biorą udział produkty genów *Bcl-1* i *p53*. Śmierć komórek gametogenicznych pod wpływem mutacji genów bądź niekorzystnych warunków środowiskowych oraz jej swoisty molekularny mechanizm pozostaje nadal szeroko badanym zagadnieniem [59].

### 2.2. Apoptoza a nowotwory gonady męskiej

Cechą charakteryzującą komórki nowotworowe jest ich niekontrolowana i nieograniczona proliferacja. Spośród genów, które powodują takie zachowanie komórek znajdują się geny związane z mitozą, regulacją cyklu komórkowego i apoptozą. Wirusy powodujące nowotwory (HPV) wytwarzają białka, które blokują aktywność p53 lub wytwarzają białko podobne do Bcl-2. Komórki nowotworowe, które powstają bez udziału wirusów mogą wytwarzać FasL albo białko blokujące podobne do Fas, obniżając swoją ekspresję Apaf-1. Mechanizmy te powodują, że komórki są bardziej odporne na apoptozę.

Badania nad TGCT ujawniły, że część z nich (37%) ma mutację uniemożliwiającą powstanie funkcjonalnego białka Fas [78]. Zauważono również, że oporność TGCT na chemioterapeutykę cisplatynę jest właśnie skorelowana z upośledzeniem drogi aktywacji apoptozy poprzez FasL/Fas

[72]. Nie zaobserwowano natomiast korelacji pomiędzy apoptozą powodowaną cisplatyną lub napromieniowaniem a mutacjami w genie *p53*, poziomem czynnika Bcl-2 i Bax. Ekspresja genów Fas/FasL przy braku ekspresji Bcl-2 występowała w nasieniakach, jednak ekspresja ta nie była skorelowana z indeksem apoptotycznym. Liczba komórek Bax-pozytywnych w tkance nowotworu była ściśle powiązana z liczbą komórek podlegających apoptozie [36].

### 2.3. Azoospermia a apoptoza

Spośród różnych systemów kontroli spermatogenezy proces apoptozy jest odpowiedzialny za eliminację nieprawidłowych gamet czy ich prekursorów z nabłonka plemnikotwórczego, dlatego w jądrze z uszkodzoną spermatogenezą obserwuje się wyższy indeks apoptotyczny komórek. Porównując ekspresję Fas/FasL w zdrowym i azoospermicznym jądrze zauważono, że FasL ulega silniejszej ekspresji w komórkach Sertolego w gonadach z blokami spermatogenezy, natomiast białko Fas ulega ekspresji na komórkach gametogenicznych na wyższym poziomie u mężczyzn z postmiejotycznym blokiem spermatogenezy. Poziom Fas w spermatoocytach, w prawidłowej gonadzie był porównywalny z poziomem tego białka u mężczyzn z premejojotycznym blokiem spermatogenezy [30]. Plemniki wykazujące cechy apoptotyczne są liczniejsze w nasieniu osobników z oligozoospermią niż u mężczyzn z prawidłową spermatogenezą [60]. Zaobserwowano większą liczbę plemników z białkiem Fas na powierzchni wskazującą, że u osób z upośledzoną spermatogenezą istnieje fenomen „ucieczki od apoptozy” pomimo genetycznego profilu ekspresji predysponującego do popełnienia „samobójczej śmierci”.

### 2.4. IL-1 a apoptoza

Apoptoza jest również ewolucyjnie ukształtowanym mechanizmem obronnym przed infekcjami bakteryjnymi czy wirusowymi, wydaje się więc logicznym połączenie funkcji układu interleukiny 1, głównej interleukiny zapalnej, z procesem apoptozy. Jednym z takich elementów jest wspólny szlak przekazywania sygnału prowadzący do uaktywnienia NF $\kappa$ B [64], a wiele białek przekaźnikowych tej kaskady zawiera domeny śmierci (np. MyD88, IRAK1 i 2). IL-1 $\beta$  może zarówno stymulować, jak i hamować apoptozę w zależności od stanu fizjologicznego komórki, na którą wywiera wpływ [31]. Pośredni wpływ na ten proces może wywierać także IL-18 przez stymulację wytwarzania interferonu gamma, który może kierować komórki nowotworowe na drogę apoptozy poprzez ICE-zależną drogę [17]. Szlak apoptotyczny związany z kaspazą 1 nie jest szeroko rozpowszechniony a jego kolejne etapy nie do końca poznane. Wiadomym jest, że nadekspresja tego enzymu łączy się nierozzerwalnie z apoptozą [55]. Ponadto wydaje się, że kaspaza 1 pełni rolę w apoptozie wywoływanej przez system Fas/FasL. ICE należy do podrodziny kaspaz zapalnych a w hierarchii enzymów apoptotycznych jawi się jako „wzmocniacz” procesu, który jest pośrednikiem pomiędzy kaspazami inicjującymi (np. kaspazą 8) a wykonawczymi (np. kaspazą 7) [13].

## 3. Immunoprzywilejowanie

Termin „uprzywilejowanie immunologiczne” dotyczy pewnych miejsc w organizmie, które z tych czy innych względów muszą podlegać swoistej ochronie przed własnym ukła-

dem odpornościowym. Tkanki te to mózg, gonady, oko, ciążarna macica i łożysko. Uważa się także, że niektóre nowotwory potrafią wytworzyć środowisko odpowiadające immunoprzywilejowaniu i przez to ująć uwadze systemowi immunologicznemu [35].

Gonada męska jest narządem uprzywilejowanym immunologicznie. Jest to spowodowane tym, że antygeny (szczególnie te znajdujące się wewnątrz kanalik plemnikotwórczego), pojawiają się już po czasie, kiedy układ immunologiczny „uczy się” rozpoznawać i tolerować własne antygeny. Musi więc istnieć system chroniący komórki rozrodcze przed atakami własnego układu odpornościowego. Oprócz fizycznej bariery, którą stanowi śródbłonek naczyń włosowatych, błony granicznej utworzonej z komórek mioidalnych i połączeń ścisłych między wypustkami komórek Sertolego, istnieje także bariera czynnościowa. Jednym z elementów tej bariery może być ekspresja białek Fas/FasL, którą opisano powyżej przy omawianiu procesu apoptozy oraz unikatowa ekspresja genów układu zgodności tkankowej MHC klasy I [47]. W odróżnieniu od większości komórek somatycznych, pierwotne komórki gametogeniczne mają na swojej powierzchni niewiele antygenów klasycznych (tzn. HLA-A,-B,-C). mRNA dla tych genów znajduje się tylko w komórkach przedziału przypodstawnego (przed połączeniami ścisłymi komórek podporowych), nie wydaje się jednak by ulegało ono znaczącej translacji [27]. W bardziej zróżnicowanych komórkach gametogenicznych, nie znaleziono ani białek, ani transkryptów klasycznych antygenów zgodności tkankowej [44]. Jednak w komórkach gametogenicznych następuje ekspresja MHC genów nieklasycznych [28], których zdolność do prezentowania antygenów jest znacznie obniżona. Zachowują one jedynie umiejętność prezentacji nielicznych antygenów wirusowych. Zaobserwowano, że cytokiny (TNF- $\alpha$  i INF- $\gamma$  – indukowane przez IL-18) mają wpływ na ekspresję Fas na komórkach Sertolego [66].

Mimo że jądro jest narządem immunologicznie uprzywilejowanym, nie jest całkowicie odizolowane od układu immunologicznego. W gonadzie znajduje się liczna populacja makrofagów o określonym fenotypie i to im właśnie przypisuje się rolę w utrzymaniu immunologicznie wyspecjalizowanego środowiska. Tak jak w większości tkanek krążące we krwi limfocyty mają stosunkowo łatwy dostęp do tkanki jądra. Zapalenie jądra powstaje najczęściej w wyniku infekcji bakteryjnej lub wirusowej jako powikłanie zapalenia przyusznic, prawdopodobnie bardziej na skutek pokrewieństwa molekularnego niż bezpośredniego działania. W czasie zapalenia do tkanki przenikają makrofagi, którym brakuje odpowiednich, swoistych jądrowych markerów i to prawdopodobnie one są odpowiedzialne za uczestniczenie i utrzymywanie reakcji zapalnej [38]. Dootrzewnowe podanie szczurom LPS wywołuje obniżenie steroidogenezy w komórkach Leydiga bez obniżanie poziomu LH, powoduje również wzrost ekspresji IL-1 $\beta$  w jądrze [33], co wskazuje, że stan zapalny dotyczący całego organizmu hamuje spermatogenezę i wywołuje lokalny stan zapalny. Oczywiście zapalenie lokalne wygasza także wytwarzanie testosteronu i obniża intensywność prowadzonej spermatogenezy.

### 3.1. Rola IL-1

Kolejnym elementem kontroli odpowiedzi immunologicznej, skierowanej przeciw własnym antygenom w gonadzie męskiej, może być układ genów IL-1. Układ IL-1 ulega ekspresji konstytutywnej w mózgu, oku i jądrze, tj. głównych organach chronionych według działającego mechanizmu immunoprzywilejowania [25]. Podanie do rogówki oka myszy IL-1RA zapobiega aktywacji komórek Langerhansa poprzez hamowanie IL-1 $\beta$ -zależnej reakcji zapalnej [16]. Doświadczenia prowadzone przez Bergh i Soderą wykazały, że iniekcja zarówno rekombinowanej IL-1 $\alpha$  jak i oczyszczonej tIL-1 do wnętrza gonad szczurów nie wywołały odpowiedzi zapalnej. Jednak podanie tych samych substancji w inne miejsce organizmu u gryzoni powodowało powstanie takiej reakcji. Podanie w podobny sposób IL-1 $\beta$  powodowało ostrą odpowiedź zapalną, włączając w to przenikanie leukocytów, również do gonady męskiej [5]. Wysunięto stąd wniosek o istnieniu w gonadzie parakrynowego mechanizmu hamującego powstawanie stanów zapalnych przy wysokich lokalnych stężeniach IL-1 $\alpha$ , a niewywołującego tego samego efektu przy zwiększonym stężeniu IL-1 $\beta$ . Molekularny mechanizm rządzący tym zjawiskiem pozostaje do tej pory niewyjaśniony. Zauważono także, że płyn ze śródmiąższka (IF – interstitial fluid), w zależności od użytego stężenia, może w małych stężeniach stymulować, a przy dużych hamować proliferację i aktywację limfocytów T. Według Hedgera właśnie ta cecha IF mogłaby być odpowiedzialna za kierowanie na drogę apoptozy zaktywowanych, proliferujących limfocytów, które znalazły się w jądrze i w ten sposób tworzyć jeden z elementów immunoregulacji [39].

## IV. PODSUMOWANIE

Spermatogeneza jest procesem, którego prawidłowy przebieg jest uwarunkowany właściwą funkcją i oddziaływaniem hormonów steroidowych, czynników regulacji lokalnej oraz prawdopodobnie wielu innych, niezidentyfikowanych do tej pory, genów. Większość informacji pochodzi z badań na modelach mysich i szczurzych, a bezpośrednie przełożenie wyników na biologię naczelnych, ze względu na istotne różnice dotyczące struktury i czynności nabłonka plemnikotwórczego, nie wydaje się uzasadnione. Pomimo iż wiedza na temat czynników parakrynowych stale się rozszerza nadal brak jednolitego modelu ich wzajemnego powiązania w procesie wytwarzania męskich komórek rozrodczych. Bogaty układ receptorowy IL-1 i związane z nim białkowe kaskady przekazujące sygnał pobudzają ekspresję wielu genów odpowiedzialnych za rozwój i utrzymanie odpowiedzi zapalnej. IL-1 ulega konstytutywnej ekspresji w męskim jądrze tworząc tam swoiste mikrośrodowisko, w którym z diploidalnej komórki gametogenicznej powstaje haploidalny, wysoko wyspecjalizowany plemnik. Może być także elementem fizjologicznej ochrony (immunotolerancji) wobec obcych dla układu odpornościowego antygenów własnej gonady męskiej, tworząc jeden z elementów zjawiska immunoprzywilejowania.

## PIŚMIENICTWO

- [1] Ali S., Hasnain S.E.: Genomics of the human Y-chromosome. I. Association with male infertility. *Gene*, 2003; 321: 25–37
- [2] Arend W.: The balance between IL-1 and IL-1Ra in disease. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2002; 13: 323–340
- [3] Arend W.P., Guthridge C.J.: Biological role of interleukin 1 receptor antagonist isoforms. *Ann. Rheum. Dis.*, 2000; 59(Suppl.1): 60–64
- [4] Beasley D., Cooper A.L.: Constitutive expression of interleukin-1 $\alpha$  precursor promotes human vascular smooth muscle cell proliferation. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 1999; 276: H901–H912
- [5] Bergh A., Soder O.: Interleukin-1 beta but not interleukin-1 alpha, induces acute inflammation-like changes in the testicular microcirculation of adult rats. *J. Reprod. Immunol.*, 1990; 17: 155–165
- [6] Biet F., Loch C., Kremer L.: Immunoregulatory functions of interleukin 18 and its role in defense against bacterial pathogens. *J. Mol. Med.*, 2002; 80: 147–162
- [7] Breder C.D., Dinarello C.A., Saper C.B.: Interleukin-1 immunoreactive innervation of the human hypothalamus. *Science*, 1988; 240: 321–324
- [8] Bresnihan B., Alvaro-Gracia J.M., Cobby M., Doherty M., Domljan Z., Emery P., Nuki G., Pavelka K., Rau R., Rozman B., Watt I., Williams B., Aitchison R., McCabe D., Musick P.: Treatment of rheumatoid arthritis with recombinant human interleukin-1 receptor antagonist. *Arthritis Rheum.*, 1998; 41: 2196–2204
- [9] Brody D.T., Durum S.K.: Membrane IL-1: IL-1 alpha precursor binds to the plasma membrane via a lectin-like interaction. *J. Immunol.*, 1989; 143: 1183–1187
- [10] Burns K., Martinon F., Esslinger C., Pahl H., Schneider P., Bodmer J., Di Marco F., French L., Tschopp J.: MyD88, an adapter protein involved in interleukin-1 signaling. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 12203–12209
- [11] Calkins J.H., Guo H., Sigel M.M., Lin T.: Differential effects of recombinant interleukin-1 alpha and beta on Leydig cell function. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1990; 167: 548–553
- [12] Cerretti D.P., Kozlosky C.J., Mosley B., Nelson N., Van Ness K., Greenstreet T.A., March C.J., Kronheim S.R., Druck T., Cannizzaro L.A.: Molecular cloning of the interleukin-1 beta converting enzyme. *Science*, 1992; 256: 97–100
- [13] Cohen G.M.: Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem. J.*, 1997; 326: 1–16
- [14] Colotta F., Dower S.K., Sims J.E., Mantovani A.: The type II 'decoy' receptor: a novel regulatory pathway for interleukin 1. *Immunol. Today*, 1994; 15: 562–566
- [15] Dale M., Nicklin M.J.: Interleukin-1 receptor cluster: gene organization of IL1R2, IL1R1, IL1RL2 (IL-1Rrp2), IL1RL1 (T1/ST2), and IL18R1 (IL-1Rrp) on human chromosome 2q. *Genomics*, 1999; 57: 177–179
- [16] Dana M.R., Dai R., Zhu S., Yamada J., Streilein J.W.: Interleukin-1 receptor antagonist suppresses Langerhans cell activity and promotes ocular immune privilege. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1998; 39: 70–77
- [17] Detjen K.M., Farwig K., Welzel M., Wiedenmann B., Rosewicz S.: Interferon gamma inhibits growth of human pancreatic carcinoma cells via caspase-1 dependent induction of apoptosis. *Gut*, 2001; 49: 251–262
- [18] Devouassoux-Shisheboran M., Mauduit C., Tabone E., Droz J.P., Benahmed M.: Growth regulatory factors and signalling proteins in testicular germ cell tumours. *APMIS*, 2003; 111: 212–224
- [19] Dinarello C.A.: The cytokine handbook. Academic Press, London, 1994
- [20] Dinarello C.A.: IL-18: A TH1-inducing, proinflammatory cytokine and new member of the IL-1 family. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1999; 103, 11–24
- [21] Dinarello C.A.: IL-1 $\alpha$ . W: Cytokine reference, t.1, red.: Oppenheim J., Feldmann M. Academic Press, San Diego, 2001; 307–318
- [22] Eisenberg S.P., Brewer M.T., Verderber E., Heimdal P., Brandhuber B.J., Thompson R.C.: Interleukin 1 receptor antagonist is a member of the interleukin 1 gene family: evolution of a cytokine control mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991; 88: 5232–5236
- [23] Eisenberg S.P., Evans R.J., Arend W.P., Verderber E., Brewer M.T., Hannum C.H., Thompson R.C.: Primary structure and functional expression from complementary DNA of a human interleukin-1 receptor antagonist. *Nature*, 1990; 343: 341–346
- [24] Feldmann M., Saklatvala J.: Proinflammatory cytokines. W: Cytokine reference. Red.: Oppenheim J., Feldmann M. Academic Press, San Diego, 2001; t.1: 291–305
- [25] Filippini A., Riccioli A., Padula F., Lauretti P., D'Alessio A., De Cesaris P., Gandini L., Lenzi A., Ziparo E.: Control and impairment of immune privilege in the testis and in semen. *Hum. Reprod. Update*, 2001; 7: 444–449
- [26] Fiszer D., Rozwadowska N., Lukaszyc A., Slomski R., Kurpisz M.: Quantitative mRNA analysis of IL-1 gene system in human testis. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2003; 50: 389–398
- [27] Fiszer D., Kurpisz M.: Major histocompatibility complex expression on human, male germ cells: a review. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1998; 40: 172–176
- [28] Fiszer D., Ulbrecht M., Fernandez N., Johnson J.P., Weiss E.H., Kurpisz M.: Analysis of HLA class Ib gene expression in male gametogenic cells. *Eur. J. Immunol.*, 1997; 27: 1691–1695
- [29] Ford W.: Biological mechanisms of male infertility. *Lancet*, 2001; 357: 1223–1224
- [30] Francavilla S., D'Abrizio P., Rucci N., Silvano G., Properzi G., Straface E., Cordeschi G., Necozone S., Gnessi L., Arizzi M., Ulisse S.: Fas and Fas ligand expression in fetal and adult human testis with normal or deranged spermatogenesis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000; 85: 2692–2700
- [31] Friedlander R.M., Gagliardini V., Rotello R.J., Yuan J.: Functional role of interleukin 1 beta (IL-1 beta) in IL-1 beta-converting enzyme-mediated apoptosis. *J. Exp. Med.*, 1996; 184: 717–724
- [32] Gomez E., Morel G., Cavalier A., Lienard M.O., Haour F., Courtens J.L., Jegou B. Type I and type II interleukin-1 receptor expression in rat, mouse, and human testes. *Biol. Reprod.*, 1997; 56: 1513–1526
- [33] Gow R.M., O'Bryan M.K., Canny B.J., Ooi G.T., Hedger M.P.: Differential effects of dexamethasone treatment on lipopolysaccharide-induced testicular inflammation and reproductive hormone inhibition in adult rats. *J. Endocrinol.*, 2001; 168: 193–201
- [34] Granowitz E.V., Porat R., Mier J.W., Pribble J.P., Stiles D.M., Bloedow D.C., Catalano M.A., Wolff S.M., Dinarello C.A.: Pharmacokinetics, safety and immunomodulatory effects of human recombinant interleukin-1 receptor antagonist in healthy humans. *Cytokine*, 1992; 4: 353–360
- [35] Green D.R., Ferguson T.A.: The role of Fas ligand in immune privilege. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2001; 2: 917–924
- [36] Grobholz R., Zentgraf H., Kohrmann K.U., Bleyl U.: Bax, Bcl-2, fas and Fas-L antigen expression in human seminoma: correlation with the apoptotic index. *APMIS*, 2002; 110: 724–732
- [37] Hakovirta H., Penttila T.L., Pollanen P., Froysoa B., Soder O., Parvinen M.: Interleukin-1 bioactivity and DNA synthesis in X-irradiated rat testes. *Int. J. Androl.*, 1993; 16: 159–164
- [38] Hedger M.P.: Macrophages and the immune responsiveness of the testis. *J. Reprod. Immunol.*, 2002; 57: 19–34
- [39] Hedger M.P., Nikolic-Paterson D.J., Hutchinson P., Atkins R.C., de Kretser D.M.: Immunoregulatory activity in adult rat testicular interstitial fluid: roles of interleukin-1 and transforming growth factor beta. *Biol. Reprod.*, 1998; 58: 927–934
- [40] Heimdal K., Olsson H., Tretli S., Fossa S.D., Borresen A., Bishop D.T.: A segregation analysis of testicular cancer based on Norwegian and Swedish families. *Br. J. Cancer*, 1997; 75: 1084–1087
- [41] Horai R., Asano M., Sudo K., Kanuka H., Suzuki M., Nishihara M., Takahashi M., Iwakura Y.: Production of mice deficient in genes for interleukin (IL)-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha/\beta$ , and IL-1 receptor antagonist shows that IL-1 $\beta$  is crucial in turpentine-induced fever development and glucocorticoid secretion. *J. Exp. Med.*, 1998; 187: 1463–1475
- [42] Iammarrone E., Balet R., Lower A.M., Gillott C., Grudzinskas J.G.: Male infertility. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 2003; 17: 211–229
- [43] Janitz M., Fiszer D., Lukaszyc A., Skorupski W., Kurpisz M.: Analysis of mRNA expression for interleukin-1 genes on human testicular cells. *Immunol. Lett.*, 1995; 48: 139–143
- [44] Janitz M., Fiszer D., Michalczak-Janitz K., Lukaszyc A., Fernandez N., Skorupski W., Kurpisz M.: Analysis of mRNA for class I HLA on human gametogenic cells. *Mol. Reprod. Dev.*, 1994; 38: 231–237
- [45] Janitz M., Kurpisz M.: Rola czynników parakrynowych w męskim układzie rozrodczym. *Post. Biol. Kom.*, 1994; 21: 351–373
- [46] Kim Y.M., Kang H.S., Paik S.G., Pyun K.H., Anderson K.L., Torbett B.E., Choi I.: Roles of IFN consensus sequence binding protein and PU.1 in regulating IL-18 gene expression. *J. Immunol.*, 1999; 163: 2000–2007



- [47] Kowalik I., Kurpisz M., Jakubowiak A., Janecki A., Lukaszuk A., Szymczynski G.: Evaluation of HLA expression on gametogenic cells isolated from human testis. *Andrologia*, 1989; 21: 237–243
- [48] Kurpisz M., Fiszer D.: Antygeny, molekularne czynniki regulacji wzrostu i różnicowania oraz elementy immunomodulacji w spermatogenezie. W: *Andrologia*. Red.: Semczuk M., Kurpisz M. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 1998; 66–80
- [49] Lang D., Knop J., Wesche H., Raffetseder U., Kurrle R., Boraschi D., Martin M.U.: The type II IL-1 receptor interacts with the IL-1 receptor accessory protein: a novel mechanism of regulation of IL-1 responsiveness. *J. Immunol.*, 1998; 161: 6871–6877
- [50] Lee J., Richburg J.H., Younkin S.C., Boekelheide K.: The Fas system is a key regulator of germ cell apoptosis in the testis. *Endocrinology*, 1997; 138: 2081–2088
- [51] Lukaszuk A.: Plemnikiotwórcza i dokrewna czynność jądra. W: *Andrologia*. Red.: Semczuk M., Kurpisz M. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 1998; 47–65
- [52] Ma Y., Thornton S., Boivin G.P., Hirsh D., Hirsch R., Hirsch E.: Altered susceptibility to collagen-induced arthritis in transgenic mice with aberrant expression of interleukin-1 receptor antagonist. *Arthritis Rheum.*, 1998; 41: 1798–1805
- [53] March C.J., Mosley B., Larsen A., Cerretti D.P., Braedt G., Price V., Gillis S., Henney C.S., Kronheim S.R., Grabstein K., Conlon P.J., Hopp T.P., Cosman D.: Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs. *Nature*, 1985; 315: 641–647
- [54] McLachan R.: Studies on the hormonal control of spermatogenesis using *in vivo* model of spermatogenic suppression and restoration. *Endokrynologia Polska*, 1997; 48(Suppl.3): 67–79
- [55] Miura M., Zhu H., Rotello R., Hartwig E.A., Yuan J.: Induction of apoptosis in fibroblasts by IL-1 beta-converting enzyme, a mammalian homolog of the *C. elegans* cell death gene *ced-3*. *Cell*, 1993; 75: 653–660
- [56] Novick D., Kim S.H., Fantuzzi G., Reznikov L.L., Dinarello C.A., Rubinstein M.: Interleukin-18 binding protein: a novel modulator of the Th1 cytokine response. *Immunity*, 1999; 10: 127–136
- [57] O'Neill L., Dower S.: IL-1 receptor family. W: *Cytokine reference*. Red.: Oppenheim J.J., Feldmann M. Academic Press, San Diego, 2001; t.2: 1565–1585
- [58] Ohlsson K., Bjork P., Bergenfeldt M., Hageman R., Thompson R.C.: Interleukin-1 receptor antagonist reduces mortality from endotoxin shock. *Nature*, 1990; 348: 550–552
- [59] Ohta H., Aizawa S., Nishimune Y.: Functional analysis of the p53 gene in apoptosis induced by heat stress or loss of stem cell factor signaling in mouse male germ cells. *Biol. Reprod.*, 2003; 68: 2249–2254
- [60] Oosterhuis G.J., Mulder A.B., Kalsbeek-Batenburg E., Lambalk C.B., Schoemaker J., Vermes I.: Measuring apoptosis in human spermatozoa: a biological assay for semen quality? *Fertil. Steril.*, 2000; 74: 245–250
- [61] Pan G., Risser P., Mao W., Baldwin D.T., Zhong A.W., Filvaroff E., Yansura D., Lewis L., Eigenbrot C., Henzel W.J., Vandlen R.: IL-1H, an interleukin 1-related protein that binds IL-18 receptor/IL-1Rrp. *Cytokine*, 2001; 13: 1–7
- [62] Petridou E., Roukas K.I., Dessypris N., Aravantinos G., Bafaloukos D., Efraimidis A., Papacharalambous A., Pektasidis D., Rigatos G., Trichopoulos D.: Baldness and other correlates of sex hormones in relation to testicular cancer. *Int. J. Cancer*, 1997; 71: 982–985
- [63] Pollanen P., Soder O., Parvinen M.: Interleukin-1 alpha stimulation of spermatogonial proliferation *in vivo*. *Reprod. Fertil. Dev.*, 1989; 1: 85–87
- [64] Reed J.C., Doctor K., Rojas A., Zapata J.M., Stehlik C., Fiorentino L., Damiano J., Roth W., Matsuzawa S., Newman R., Takayama S., Marusawa H., Xu F., Salvesen G., Godzik A., RIKEN GER Group, GSL Members.: Comparative analysis of apoptosis and inflammation genes of mice and humans. *Genome Res.*, 2003; 13: 1376–1388
- [65] Riccioli A., Salvati L., D'Alessio A., Starace D., Giampietri C., De Cesaris P., Filippini A., Ziparo E.: The Fas system in the seminiferous epithelium and its possible extra-testicular role. *Andrologia*, 2003; 35: 64–70
- [66] Riccioli A., Starace D., D'Alessio A., Starace G., Padula F., De Cesaris P., Filippini A., Ziparo E.: TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  regulate expression and function of the Fas system in the seminiferous epithelium. *J. Immunol.*, 2000; 165: 743–749
- [67] Rozwadowska N., Fiszer D., Kurpisz M.: Interleukin-1 system in testis—quantitative analysis. Expression of immunomodulatory genes in male gonad. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2001; 495: 177–180
- [68] Ruiz-Pesini E., Lapena A.C., Diez-Sanchez C., Perez-Martos A., Montoya J., Alvarez E., Diaz M., Urries A., Montoro L., Lopez-Perez M.J., Enriquez J.A.: Human mtDNA haplogroups associated with high or reduced spermatozoa motility. *Am. J. Hum. Genet.*, 2000; 67: 682–696
- [69] Sims J.E., Gayle M.A., Slack J.L., Alderson M.R., Bird T.A., Giri J.G., Colotta F., Re F., Mantovani A., Shanebeck K., Grabstein K.H., Dower S.K.: Interleukin 1 signaling occurs exclusively via the type I receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993; 90: 6155–6159
- [70] Skotheim R.I., Lothe R.A.: The testicular germ cell tumour genome. *APMIS*, 2003; 111: 136–150
- [71] Soder O., Sultana T., Jonsson C., Wahlgren A., Petersen C., Holst M.: The interleukin-1 system in the testis. *Andrologia*, 2000; 32: 52–55
- [72] Spiering D.C., de Vries E.G., Vellenga E., de Jong S.: Loss of drug-induced activation of the CD95 apoptotic pathway in a cisplatin-resistant testicular germ cell tumor cell line. *Cell Death Differ.*, 2003; 10: 808–822
- [73] Stevenson F.T., Turck J., Locksley R.M., Lovett D.H.: The N-terminal propeptide of interleukin 1 is a transforming nuclear oncoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997; 94: 508–513
- [74] Svechnikov K.V., Sultana T., Soder O.: Age-dependent stimulation of Leydig cell steroidogenesis by interleukin-1 isoforms. *Mol Cell Endocrinol.*, 2001; 182: 193–201
- [75] Swerdlow A.J., De Stavola B.L., Swanwick M.A., Maconochie N.E.: Risks of breast and testicular cancers in young adult twins in England and Wales: evidence on prenatal and genetic aetiology. *Lancet*, 1997; 350: 1723–1728
- [76] Sylwanowicz W., Michajlik A., Ramotowski W.: Anatomia i fizjologia człowieka. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 1990
- [77] Takao T., Mitchell W.M., Tracey D.E., De Souza E.B.: Identification of interleukin-1 receptors in mouse testis. *Endocrinology*, 1990; 127: 251–258
- [78] Takayama H., Takakuwa T., Tsujimoto Y., Tani Y., Nonomura N., Okuyama A., Nagata S., Aozasa K.: Frequent Fas gene mutations in testicular germ cell tumors. *Am. J. Pathol.*, 2002; 161: 635–641
- [79] Tarlow J.K., Blakemore A.I., Lennard A., Solari R., Hughes H.N., Steinkasserer A., Duff G.W.: Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. *Hum. Genet.*, 1993; 91: 403–404
- [80] Wakabayashi G., Gelfand J.A., Jung W.K., Connolly R.J., Burke J.F., Dinarello C.A.: Staphylococcus epidermidis induces complement activation, tumor necrosis factor and interleukin-1, a shock-like state and tissue injury in rabbits without endotoxemia. Comparison to Escherichia coli. *J. Clin. Invest.*, 1991; 87: 1925–1935
- [81] Wang D.L., Nagpal M.L., Calkins J.H., Chang W.W., Sigel M.M., Lin T.: Interleukin-1 beta induces interleukin-1 alpha messenger ribonucleic acid expression in primary cultures of Leydig cells. *Endocrinology*, 1991; 129: 2862–2866
- [82] Wilson K.P., Black J.A., Thomson J.A., Kim E.E., Griffith J.P., Navia M.A., Murcko M.A., Chambers S.P., Aldape R.A., Raybuck S.A., Livingston D.J.: Structure and mechanism of interleukin-1 beta converting enzyme. *Nature*, 1994; 370: 270–275
- [83] Yamamoto S., Jiang H., Kato R.: Inhibition of anthralin-caused skin tumor promotion and interleukin-1 alpha production by potent immunosuppressant FK506. *Cancer Lett.*, 1994; 83: 185–189
- [84] Yamanaka K., Tanaka M., Tsutsui H., Kupper T.S., Asahi K., Okamura H., Nakanishi K., Suzuki M., Kayagaki N., Black R.A., Miller D.K., Nakashima K., Shimizu M., Mizutani H.: Skin-specific caspase-1 transgenic mice show cutaneous apoptosis and pre-endotoxin shock condition with a high serum level of IL-18. *J. Immunol.*, 2000; 165: 997–1003
- [85] Yeap B.B., Wilce J.A., Leedman P.J.: The androgen receptor mRNA. *Bioessays*, 2004; 26: 672–682