Olsztyn 2022

STRESZCZENIE

Wpływ chemeryny na profil transkryptomiczny i proteomiczny błony śluzowej macicy świni domowej (*Sus scrofa domestica* L.) w okresie implantacji

mgr Kinga Aleksandra Orzechowska

Praca doktorska została wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Niny Smolińskiej w Katedrze Anatomii i Fizjologii Zwierząt Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Rozprawa doktorska składa się z dwóch prac opublikowanych w roku 2022 (1 – *Biology of Reproduction*. 2022. doi: 10.1093/biolre/ioac063; 2 – *Cells*. 2022. doi: 10.3390/cells11071161), których tematyka dotyczy zagadnień związanych z wpływem chemeryny na zmiany transkryptomiczne oraz proteomiczne błony śluzowej macicy świni domowej (*Sus scrofa domestica* L.) w okresie implantacji.

Metabolizm i funkcje rozrodcze organizmu są ze sobą ściśle powiązane. W związku z tym, w ciągu ostatnich lat badania nad funkcjonowaniem tkanki tłuszczowej zyskują coraz większą popularność. Chemeryna jest jedną z wielu adipokin, biologicznie czynnych substancji, wydzielanych przez adipocyty (komórki tkanki tłuszczowej), zaangażowanych w regulację homeostazy energetycznej organizmu. Hormon ten po raz pierwszy został zidentyfikowany w 2003 roku jako ligand trzech receptorów: receptora 1 podobnego do chemokin (ang. chemokine like receptor 1, CMKLR1, zwanego również receptorem chemerynowym 23 – ChemR23), receptora 1 związanego z białkiem G (ang. G protein-coupled receptor-1, GPR1) oraz receptora 2 podobnego do chemokin (ang. C-C chemokine receptor-like 2, CCRL2). Większość obecnej we krwi chemeryny krąży w postaci prohormonu, który w określonych warunkach modyfikowany jest do formy aktywnej biologicznie. Po proteolitycznym rozszczepieniu, chemeryna przekształca się w silnego i wysoce specyficznego agonistę swoich receptorów. Dowiedziono, że chemeryna – hormon sklasyfikowany zarówno jako chemokina jak i adipokina, reguluje wiele procesów fizjologicznych. Chemeryna kontroluje między innymi pobieranie pokarmu, metabolizm składników odżywczych, stany zapalne, reakcje na stres czy rozród. Badania na modelu świni domowej wykazały, że ekspresja chemeryny oraz jej

receptorów (systemu chemerynowego) występuje w strukturach osi podwzgórze-przysadka-gonady, a także w macicy, trofoblastach i zarodkach. Dodatkowo, wykazano zależność pomiędzy poziomem mRNA oraz białek systemu chemerynowego a specyficznym środowiskiem hormonalnym charakterystycznym dla badanego stanu fizjologicznego samicy. Stwierdzono również, że w błonie śluzowej ciężarnych świń, koncentracja białka chemeryny wzrasta w czasie implantacji. Dowiedziono także, że stężenie chemeryny w płynie macicznym wzrasta w okresie matczynego rozpoznania ciąży i implantacji. Powyższe dane mogą sugerować potencjalny udział chemeryny w procesach związanych z implantacją zarodka.

Celem niniejszej pracy była weryfikacja hipotezy badawczej, zakładającej, że chemeryna poprzez wpływ na transkryptom i proteom błony śluzowej świni kontroluje wytwarzanie wielu czynników istotnych dla prawidłowego przebiegu implantacji. Postawioną hipotezę zweryfikowano poprzez określenie wpływu chemeryny na profil transkryptomiczny i proteomiczny hodowanych *in vitro* skrawków błony śluzowej macicy świni domowej w 15-16 dniu ciąży (okres implantacji). W tym celu wykonano następujące zadania badawcze:

1) określono wpływ chemeryny na globalną ekspresję genów błony śluzowej macicy, uwzględniając również zmiany w profilach ekspresji długich niekodujących RNA (ang. *long non-coding RNAs*, lncRNAs) oraz w procesie alternatywnego splicingu (ang. *alternative splicing*, AS) przy użyciu metody Sekwencjonowania Następnej Generacji (NGS, RNA-seq);
2) zbadano wpływ chemeryny na globalną ekspresję białek w błonie śluzowej macicy wykorzystując metodę Chromatografii Cieczowej Sprzężonej z Tandemową Spektrometrią Mas (LC-MS/MS).

W prezentowanych badaniach zidentyfikowano 130 genów wykazujących zmiany ekspresji (ang. *differentially expressed genes*, DEGs) pod wpływem chemeryny. Przypisano je do 73 adnotacji funkcjonalnych. Dodatkowo zaobserwowano 12 lncRNAs o zmienionej, pod wpływem chemeryny, ekspresji. Ponadto, wykryto 386 transkryptów, w obrębie których zidentyfikowano miejsca splicingowe o zmiennym profilu ekspresji. Rezultaty badań proteomu błony śluzowej macicy hodowanej w obecności chemeryny potwierdziły zmiany w ekspresji 352 białek powiązanych z 47 adnotacjami funkcjonalnymi. Analizy ontologiczne powyższych genów oraz białek wykazały ich

powiązanie z procesami migracji i adhezji komórek, angiogenezy, odpowiedzi immunologicznej oraz steroidogenezy.

Uzyskane wyniki przyczyniły się do pogłębienia wiedzy dotyczącej wpływu chemeryny na globalną ekspresję genów oraz białek w komórkach błony śluzowej macicy świni w okresie implantacji. Można przypuszczać, że chemeryna jest ważnym czynnikiem regulującym prawidłowy przebieg ciąży i proces implantacji zarodka.

Praca finansowana z projektu badawczego Narodowego Centrum Nauki: OPUS13 (2017/25/B/NZ9/00040) oraz Programu Rozwojowego Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie: POWR.03.05.00-00-Z310/17 współfinansowanego przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.