STRESZCZENIE

WPŁYW CHEMERYNY NA TRANSKRYPTOM KOMÓREK LUTEALNYCH JAJNIKA ŚWINI DOMOWEJ (*SUS SCROFA DOMESTICA* L.)

mgr Karol G. Makowczenko

Praca doktorska została wykonana w Katedrze Anatomii i Fizjologii Zwierząt Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie pod kierunkiem prof. dr. hab. Tadeusza Kamińskiego (promotor) i dr. Jana Pawła Jastrzębskiego (promotor pomocniczy).

Rozprawa doktorska składa się z dwóch prac opublikowanych w 2020 i 2022 roku (1 – *Genes* 2020; 11:651. doi: 10.3390/genes11060651; 2 – *Cells* 2022; 11:715. doi: 10.3390/cells11040715), których tematyka obejmuje wpływ chemeryny na ekspresję genów i długich niekodujących RNA oraz modyfikacje procesów alternatywnego składania transkryptów, a także allelicznej specyficzności ekspresji w komórkach lutealnych jajnika świni domowej (*Sus scrofa domestica* L.) w fazie środkowolutealnej cyklu rujowego.

Szereg badań wskazuje na istnienie w organizmach ssaków systemu endokrynnego, kontrolującego jednocześnie procesy metaboliczne oraz funkcjonowanie układu rozrodczego. Zgodnie z doniesieniami z ostatnich lat, jednym z kluczowych elementów tego systemu, wpływającym także na układ immunologiczny, wydaje się być niedawno odkryty hormon – chemeryna. Ze względu na funkcje pełnione przez ten peptyd, związane z inicjowaniem lub wyciszaniem lokalnej reakcji zapalnej oraz chemotaksją wybranych grup komórek odpornościowych, zaliczany jest on do chemokin. Ponadto, ze względu na produkcję chemeryny głównie przez adipocyty oraz jej udział w regulacji procesów metabolicznych, hormon ten zaliczany jest także do grupy adipokin. Dostępne dane wskazują również na udział chemeryny w kontroli układu rozrodczego ssaków, m.in. hamujący wpływ na steroidogenezę jajnikową. Stwierdzono także obecność transkryptów oraz białek chemeryny i jej receptorów w strukturach endokrynnej osi regulacyjnej podwzgórze–przysadka–gonady (HPG) u ludzi, szczurów, świń, bydła i owiec. Chemeryna oddziałuje na komórki docelowe poprzez trzy receptory: CMKLR1, GPR1 oraz CCRL2. Dwa pierwsze, poprzez sprzężenie z białkami G, generują odpowiedź komórki, m.in. w postaci transkrypcji wybranych genów. Ostatni z receptorów nie powoduje transdukcji sygnału, lecz odpowiada

za lokalną agregację cząsteczek chemeryny i udostępnianie ich pozostałym receptorom. Fragmentaryczne informacje dotyczące aktywności chemeryny w organizmach ssaków oraz wspomniane wyżej obserwacje były przesłanką do przeprowadzenia badań opisanych w rozprawie doktorskiej.

Postawiona w rozprawie hipoteza zakładała wpływ chemeryny na profile ekspresji genów, długich niekodujących RNA oraz przebieg procesów alternatywnego składania transkryptów i allelicznej specyficzności ekspresji w komórkach lutealnych jajnika świni domowej (*S. scrofa domestica* L.) w fazie środkowolutealnej cyklu rujowego (10–12 dzień cyklu, gdy aktywność wydzielnicza komórek jest najwyższa). Do realizacji badań zastosowano metodę wysokoprzepustowego sekwencjonowania transkryptomów (RNA-Seq), która w połączeniu z zaawansowanymi analizami *in silico* pozyskanych danych umożliwiła wgląd w mechanizmy molekularne inicjowane przez badany hormon.

Badania przeprowadzono z wykorzystaniem komórek lutelanych hodowanych w warunkach *in vitro*, pobranych od dojrzałych płciowo samic świni domowej. RNA, wyizolowane z komórek hodowanych w obecności chemeryny oraz z prób kontrolnych, poddano sekwencjonowaniu RNA-Seq, uzyskując zestaw danych, które analizowano przy użyciu narzędzi bioinformatycznych. W trakcie analiz zaobserwowano istotne zmiany ekspresji 509 genów oraz 24 transkryptów zakwalifikowanych jako długie niekodujące RNA, a także 137 przypadków modyfikacji procesu alternatywnego składania transkryptów i 18 przypadków zmienności allelicznej specyficzności ekspresji. Na podstawie uzyskanych wyników przeprowadzono szczegółowe analizy funkcjonalne, których efektem było przypisanie genów (powiązanych ze wspomnianymi procesami transkryptomicznymi) do takich procesów wewnątrzkomórkowych, jak: interakcje cytokin z receptorami cytokin, apoptoza, metabolizm kwasu arachidonowego oraz ścieżki transdukcji sygnałów chemokin, TNF, MAPK i in.. Bazując na pozyskanych danych funkcjonalnych sporządzono dokładne mapy prezentujące ujednolicony wpływ chemeryny na szlaki sygnałowe oraz metaboliczne w komórkach lutealnych świni domowej. Wyniki uzyskane metodami *in silico* walidowano na bazie materiału użytego do RNA-Seq, z zastosowaniem ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (qPCR).

Uzyskane wyniki poszerzyły wiedzę dotyczącą wpływu chemeryny na proces transkrypcji oraz towarzyszące mechanizmy molekularne w komórkach lutealnych.

Zaobserwowane zmiany transkryptomiczne mogą prowadzić do aktywacji szlaków transdukcji sygnałów MAPK oraz JAK/STAT, indukcji zarówno mechanizmów pro-apoptycznych i pro-przeżyciowych w komórkach lutealnych. Ponadto chemeryna, poprzez modyfikację transkryptomu komórek lutealnych, może kontrolować funkcjonowanie ciałka żółtego za pośrednictwem regulacji procesów steroidogenezy i angiogenezy oraz produkcji i wydzielania czynników prozapalnych oraz prostaglandyn. Przeprowadzone badania sugerują, że chemeryna jest hormonem łączącym regulację homeostazy energetycznej i układu rozrodczego w organizmach ssaków.

Praca finansowana przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu badawczego: 2015/17/B/NZ9/03595