STRESZCZENIE

ROLA WISFATYNY W REGULACJI FUNKCJI PRZEDNIEGO PŁATA PRZYSADKI ŚWINI DOMOWEJ (*SUS SCROFA DOMESTICA* L.)

mgr inż. Karolina Szymańska

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 oraz dr Marty Kieżun.

Rozprawa doktorska składa się z dwóch prac opublikowanych w 2023 roku (1 – Scientific Reports, DOI: 10.1038/s41598-023-45255-4; 2 – Cells, DOI: 10.3390/cells12242835), których tematyka obejmuje ekspresję wisfatyny w przysadce świni domowej (*Sus scrofa domestica* L.) w cyklu rujowym i wczesnej ciąży oraz wpływ wybranych hormonów na koncentrację i sekrecję wisfatyny. Ponadto, omówiono wpływ wisfatyny na sekrecję gonadotropin, apoptozę, proliferację i aktywację szlaków sygnałowych INSR, AKT/PI3K, MAPK/ERK1/2 i AMPK w tym gruczole.

Przysadka odgrywa istotną rolę w kontrolowaniu podstawowych procesów biologicznych. Aktywność tego gruczołu jest regulowana przez liczne hormony oraz inne czynniki biologicznie aktywne, do których zaliczane są adipokiny. Do tej szerokiej grupy związków należy również wisfatyna, występująca w dwóch postaciach: zewnątrzkomórkowej i wewnątrzkomórkowej. Receptor wisfatyny nie został zidentyfikowany, jednak sugeruje się, że wisfatyna może wiązać i aktywować receptor insuliny (INSR), receptor chemokin CCR5 i toll-podobny receptor 4. Wisfatyna ulega ekspresji we wszystkich strukturach osi podwzgórze-przysadka-gonady (HPG): w podwzgórzu świni i myszy, w przysadce myszy, jak również w komórkach pęcherzykowych jajników kobiet i świni. Wisfatyna bierze udział w regulacji stanów zapalnych, różnicowania komórek i kontroli homeostazy energetycznej oraz wydaje się uczestniczyć w regulacji płodności u kobiet. Nie zbadano dotychczas wpływu wisfatyny na funkcje sekrecyjne przysadki.

Celem niniejszej pracy była weryfikacja hipotezy badawczej, zakładającej, że ekspresja genu i koncentracja białka wisfatyny w komórkach przysadki świni zależy od statusu hormonalnego zwierząt związanego z fazą cyklu rujowego i okresem wczesnej ciąży. Ponadto postawiono hipotezę zakładającą, że wisfatyna uczestniczy kontroli proliferacji i apoptozy komórek przysadki, a poprzez aktywację/inhibicję szlaków INSR, AKT/PI3K, MAPK/ERK1/2

i AMPK wpływa na regulację funkcji sekrecyjnych komórek przysadki świni. Postawione hipotezy zweryfikowano poprzez:

1) ocenę poziomu ekspresji genu oraz koncentracji białka wisfatyny w komórkach przedniego (AP) i tylnego (NP) płata przysadki świni domowej w czterech fazach cyklu rujowego (2.-3., 10.-12., 14.-16., 17.-19. dzień cyklu) oraz czterech okresach wczesnej ciąży (10.-11., 12.-13., 15.-16., 27.-28. dzień ciąży) metodami real-time PCR i Western Blot;
2) określenie kolokalizacji wisfatyny z LH, FSH, ACTH, TSH, PRL, GH w 10.-12. dniu cyklu rujowego metodą immunohistochemii fluorescencyjnej;
3) ocenę wpływu GnRH, LH, FSH i INS na koncentrację białka wisfatyny metodą Western Blot oraz na sekrecję adipokiny metodą ELISA;
4) ocenę wpływu wisfatyny w różnych stężeniach i/lub blokera wisfatyny FK866 na podstawową i indukowaną GnRH i/lub INS sekrecję LH i FSH przez komórki AP w czasie cyklu rujowego metodą ELISA;
5) określenie wpływu wisfatyny i jej blokera FK866 na proliferację i apoptozę komórek AP podczas fazach cyklu rujowego;
6) ocenę wpływu wisfatyny na aktywację/inhibicję szlaków sygnałowych INSR, AKT/PI3K, MAPK/ERK1/2 i AMPK w komórkach AP w 10.-12. dniu cyklu rujowego metodą Western Blot;
7) określenie wpływu wisfatyny, antagonisty INSR i inhibitorów szlaków sygnałowych INSR, AKT/PI3K, MAPK/ERK1/2 i AMPK na sekrecję LH i FSH przez komórki AP metodą ELISA.

W efekcie przeprowadzonych badań:

- wykazano, że ekspresja genu wisfatyny i koncentracja białka wisfatyny w AP i NP zależy od fazy cyklu rujowego i okresu wczesnej ciąży, co sugeruje związek ze statusem hormonalnym samic świń;
- stwierdzono kolokalizację wisfatyny z LH, FSH, ACTH, TSH, PRL i GH w AP świni;
- potwierdzono wpływ GnRH, FSH, LH i INS na koncentrację i sekrecję białka wisfatyny;
- stwierdzono wpływ wisfatyny na podstawową oraz indukowaną GnRH i/lub INS sekrecję gonadotropin przez komórki AP;
- wykazano stymulujący wpływ wisfatyny na proliferację komórek AP;

- wykazano wpływ wisfatyny na aktywność ścieżek sygnałowych INSR, AKT/PI3K, MAPK/ERK1/2 i AMPK w przysadce świń.

Otrzymane wyniki badań wskazują, że wisfatyna, poprzez wpływ na sekrecję gonadotropin, bierze udział w regulacji procesów rozrodczych loszek.

słowa kluczowe: wisfatyna, cykl rujowy, proliferacja, apoptoza, świnia