Streszczenie

Błona śluzowa macicy jest tkanką, która pełni ważne funkcje w przebiegu wczesnej ciąży oraz zapewnia odpowiednie środowisko wewnątrzmaciczne, między innymi niezbędne do prawidłowej implantacji i rozwoju zarodka. Udokumentowano, że na molekularne mechanizmy zaangażowane w regulacje procesów rozrodczych u samic i prawidłowe funkcjonowanie macicy wpływa pole elektromagnetyczne o ekstremalnie niskiej częstotliwości (ang. *extremely low-frequency electromagnetic field,* ELF-EMF). Obecność ELF-EMF związana jest nie tylko z jego naturalnymi źródłami występującymi w przyrodzie (Ziemia, Słońce), ale także z rozwojem technologicznym i industrializacją, czego konsekwencją jest obecnie dynamicznie zwiększająca się ilość emiterów ELF-EMF w środowisku. Wyniki dotychczasowych badań przeprowadzonych na modelu świni domowej (*Sus scrofa domestica*, L.) wykazały, że ekspozycja tkanek macicy na działanie ELF-EMF w okresie około-implantacyjnym może mieć istotny wpływ na przebieg licznych procesów biologicznych, warunkujących sukces rozrodczy samic.

Przeprowadzone w ramach rozprawy doktorskiej badania wykazały, że w konsekwencji ekspozycji *in vitro* błony śluzowej macicy świni w okresie około-implantacyjnym na ELF-EMF (50 Hz, 2 h, 8 mT) powstają zmiany w mechanizmach epigenetycznej regulacji ekspresji genów, apoptozy oraz stresu oksydacyjnego. Wykazano, że ekspozycja błony śluzowej macicy na ELF-EMF powoduje wzrost poziomu metylacji DNA w regionach promotorowych genów o zmienionej pod wpływem ELF-EMF ekspresji (ang. *differentially expressed genes*, DEGs) zaangażowanych w proliferację i różnicowanie komórek (tj. *EGR2*, *ID2*), utrzymywanie ciałka żółtego i stymulację angiogenezy (*PTGER4*) oraz obniżenie poziomu metylacji DNA regionów promotorowych *IL1RAP* i *NOS3,* zaangażowanych, odpowiednio, w wewnątrzkomórkowy kompleks sygnalizacji komórkowej dla systemu IL1β i produkcję tlenku azotu (II). Nie zaobserwowano zmian poziomu metylacji DNA w przypadku regionów promotorowych genów *HSD17B2*, *MRAP2*, *SERPINE1*, *VDR* oraz *ZFP57*. Zmiany poziomu metylacji DNA w błonie śluzowej macicy, wywołane ekspozycją tkanki na ELF-EMF, mogą być przyczyną zmian profilu transkryptomicznego błony śluzowej macicy i prowadzić do zaburzenia procesów fizjologicznych towarzyszących implantacji i rozwojowi zarodków.

Stwierdzone zmiany poziomu metylacji DNA w błonie śluzowej macicy eksponowanej na ELF-EMF skłoniły do zbadania czy ekspozycja tkanki na ELF-EMF przyczynia się do zmian potencjału do metylacji DNA, wyrażonego poziomem ekspresji mRNA i koncentracji metylotransferaz DNA (ang. *DNA methyltransferases*, DNMTs), tj. DNMT1 i DNMT3a, odpowiedzialnych odpowiednio za utrzymanie metylacji i metylację DNA *de novo*. W błonie śluzowej macicy eksponowanej na ELF-EMF stwierdzono obniżenie poziomu ekspresji mRNA i koncentracji białka DNMT1 i wzrost poziomu ekspresji mRNA i koncentracji białka DNMT3a. Udokumentowano również zmiany ekspresji mRNA i koncentracji białek UHRF1, MBD1 i EZH2, które wchodzą w skład kompleksów odpowiadających za interakcję z metylacją DNA lub metylacją i acetylacją histonów, dzięki czemu przyczyniają się do obniżenia i/lub wyciszenia ekspresji genów. Wykazano także wzrost aktywności deacetylaz histonów (ang. *histone* deacetylases, HDACs), odpowiedzialnych za katalizowanie reakcji odłączenia grup acetylowych (-$COCH_3$) z N-końcowych łańcuchów histonów i zwiększanie stopnia kondensacji chromatyny. Stwierdzono również obniżenie ekspresji mRNA *DGCR8* oraz wzrost ekspresji mRNA *DICER1* i koncentracji białek DICER1 i DGCR8, odpowiedzialnych za biogenezę microRNA. Podsumowując, ELF-EMF ma potencjał do wywołania zmian ekspresji mRNA i koncentracji białek związanych z epigenetyczną regulacją ekspresji genów w błonie śluzowej macicy. Zidentyfikowane zmiany mogą być przyczyną obserwowanych zmian w profilu transkryptomicznym błony śluzowej macicy eksponowanej na działanie ELF-EMF, co z kolei może zakłócić przebieg procesów biologicznych zachodzących w macicy świni w okresie około-implantacyjnym. Na podstawie przeprowadzonej analizy funkcjonalnej wyników NGS, podczas której stwierdzono wzrost ekspresji mRNA, *GADD45G* oraz *TP53I3,* które są zaangażowane w indukcję apoptozy i odpowiedź komórkową na stres (w tym stres oksydacyjny) zbadano, czy ekspozycja na ELF-EMF może oddziaływać na proces apoptozy i/lub stres oksydacyjny w błonie śluzowej macicy świń w okresie około-implantacyjnym. Stwierdzono obniżenie poziomu ekspresji mRNA i koncentracji białka CASP7 oraz wzrost poziomu ekspresji mRNA i koncentracji białka NOS3, zaangażowanych odpowiednio w proces apoptozy oraz syntezę tlenku azotu (II) w badanej tkance eksponowanej na ELF-EMF.

Podsumowując, udokumentowano, że ELF-EMF może wpływać na potencjał do metylacji i na poziom metylacji DNA, acetylacji histonów, biogenezy microRNA,

apoptozę i stres oksydacyjny w błonie śluzowej macicy świni w okresie około-implantacyjnym. Obserwowane zmiany mogą przyczyniać się do zaburzenia proliferacji komórek, angiogenezy, aktywności sekrecyjnej i receptywności badanej tkanki, co może oddziaływać na środowisko wewnątrzmaciczne i proces implantacji.