



Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności
Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie

**Rola prokinetycyny 1 i jej receptora PROKR1
w interakcjach pomiędzy zarodkiem a endometrium
podczas wczesnej ciąży u świni**

mgr Ewelina Goryszewska-Szczurek

Praca doktorska wykonana pod kierunkiem
dr hab. Agnieszki Waclawik,
profesor instytutu
w Zakładzie Mechanizmów Działania
Hormonów Instytutu Rozrodu Zwierząt
i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk
w Olsztynie



Olsztyn 2021

Badania sfinansowano ze środków dotacji KNOW Konsorcjum "Zdrowe Zwierzę – Bezpieczna Żywność", Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego decyzja nr 05-1/KNOW2/2015 oraz środków statutowych Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie

Streszczenie

Rola prokinetycyny 1 i jej receptora PROKR1 w interakcjach pomiędzy zarodkiem a endometrium podczas wczesnej ciąży u świni

Podczas wczesnej ciąży zachodzą dwa newralgiczne procesy: maczyne rozpoznanie ciąży oraz implantacja zarodka. Maczyne rozpoznanie ciąży polega na tym, że rozwijający się zarodek sygnalizuje swoją obecność organizmowi matki. U ssaków procesy te kontrolowane są przez endo-, para-, juksta- oraz auto-kryne interakcje, w które zaangażowane są m.in. hormony, cytokiny, białka i czynniki wzrostu. Prokinetycyna 1 (PROK1) jest stosunkowo niedawno scharakteryzowanym niewielkim białkiem wydzielniczym. Ma ona szerokie działanie w różnych tkankach, w tym także w układzie rozrodczym. Rola PROK1 w błonie śluzowej macicy (endometrium) i zarodku podczas wczesnej ciąży nie jest nadal w pełni poznana.

W ramach niniejszej pracy określono profil ekspresji PROK1 i jej receptora (PROKR1) w endometrium i zarodkach świni. Dowiedziono, że ekspresja zarówno genu, jak i białka PROK1 oraz PROKR1 w endometrium oraz ekspresja mRNA *PROK1* w zarodku/trofoblaście wzrastała w okresie implantacji i rozwoju łożyska. Ponadto, w badaniach z zastosowaniem unikalnych modeli *in vivo* oraz *in vitro* stwierdzono, że ich ekspresja w endometrium zwiększała się pod wpływem obecności zarodków oraz wydzielanych przez nie sygnałów – estradiolu-17 β (E2) oraz prostaglandyny E2 (PGE2), a także pod wpływem progesteronu (P4). Wykazano również, że zarówno w endometrium, jak i w trofoblaście świni sygnalizacja PROK1-PROKR1 stymulowała fosforylację kinazy aktywowanej miogenami (MAPK) i białkowej kinazy tyrozynowej 2 (PTK2; zwanej również jako kinaza ogniskowo-adhezyjna; FAK) oraz zwiększała ekspresję wybranych genów i/lub białek zaangażowanych w angiogenezę, regulację odpowiedzi immunologicznej, adhezję i inwazję trofoblastu oraz proliferację komórek. Analiza tych genów i/lub białek wykonana w programie Ingenuity Pathway Analysis pozwoliła zidentyfikować nowe funkcje, w które może być zaangażowana PROK1, między innymi takie jak: kontakt między komórkami, migracja, przyleganie, inwazyjność i proliferacja komórek, różnicowanie się komórek nabłonka, migracja leukocytów, regulacja odpowiedzi immunologicznej, angiogeneza oraz waskulogeneza. Przeprowadzone badania udowodniły, że PROK1 działając poprzez swój receptor (PROKR1) stymulowała bezpośrednio angiogenezę poprzez zwiększenie proliferacji komórek śródbłonka naczyń krwionośnych (endotelialnych) pochodzących

z endometrium oraz bierze znaczący udział w tworzeniu struktur kapilaropodobnych przez te komórki. Dowiedziono także, że sygnalizacja PROK1-PROKR1 w endometrium świni stymulowała angiogenezę zachodzącą podczas rozwoju łożyska z udziałem szlaków wewnątrzkomórkowych związanych z MAPK, mTOR, cAMP, PI3K, AKT oraz NFkB. Wykazano również, pośredni wpływ PROK1 na angiogenezę przez stymulację syntezy i sekrecji czynnika wzrostu śródbłónka naczyń krwionośnych (VEGFA) i prostaglandyny F2 α (PGF2 α) oraz zwiększenie ekspresji genów i/lub białek innych czynników angiogennych w endometrium. Natomiast w komórkach trofoblastu PROK1 stymulowała ich proliferację (przez szlaki związane z MAPK, PI3K/AKT/mTOR oraz cAMP) oraz adhezję (przez szlaki związane z MAPK i/lub PI3K/AKT).

Podsumowując, wyniki badań niniejszej pracy doktorskiej przyczyniają się do wyjaśnienia mechanizmu działania PROK1 w molekularnym dialogu między zarodkami a macicą. Dokładniejsze poznanie tego procesu pozwoli na poznanie interakcji zarodkowo-matczynych warunkujących ustanowienie i rozwój ciąży. Uzyskane wyniki wykazały, że PROK1 działa plejotropowo jako mediator sygnału zarodkowego, który bierze udział w procesach: osiągnięcia gotowości endometrium do przyjęcia zarodków (tzn. receptywności endometrium), a także implantacji oraz rozwoju łożyska.