

Streszczenie

Udział chemokin w przebudowie błony śluzowej macicy świni

Błona śluzowa macicy ulega stałym przemianom zarówno w cyklu rujowym jak i w ciąży. W okresie okołomplantacyjnym dochodzi do zmian w obrębie komórek nabłonka powierzchniowego, mających na celu umożliwienie adhezji i implantacji zarodka. Ponadto, w błonie śluzowej macicy zachodzi intensywny proces rozrostu naczyń krwionośnych i limfatycznych, a także zwiększony napływ komórek immunologicznych, skutkujący utworzeniem immunotolerancyjnego środowiska dla rozwijającego się zarodka. Od właściwej przebudowy błony śluzowej w okresie wczesnej ciąży zależy późniejsze powodzenie implantacji i dalszy przebieg ciąży. Znanych jest wiele czynników, w tym także cytokin, uczestniczących w procesach przemiany błony śluzowej macicy. Celem niniejszej pracy było określenie roli chemokin w przebudowie błony śluzowej macicy świni.

W ramach niniejszej pracy określono profil ekspresji chemokin i ich receptorów w błonie śluzowej macic pobranych od loszek będących w 10, 12 i 14 dniu cyklu rujowego i ciąży. Zaobserwowano zwiększoną ekspresję mRNA chemokin *CCL2*, *-5*, *-11*, *CXCL9*, *-10*, *-12* w okresie okołomplantacyjnym. Analiza immunofluorescencyjna wykazała obecność badanych chemokin oraz ich receptorów zarówno w komórkach błony śluzowej macicy jak i trofoblaście, jednak ich dokładna dystrybucja różniła się pomiędzy chemokinami/ receptorami. Ponadto, analiza ekspresji genów wykazała zwiększoną ekspresję chemokin *CCL8* i *CXCL8* w zarodkach świni z dnia 12, a także zwiększoną ekspresję *CXCL12* w dniu 10. Poziom ekspresji chemokin *CXCL2*, *CXCL9* i *CXCL10*, a także receptorów *CCR1*, *CXCR2* i *CXCR3* w zarodkach był nieoznaczalny.

Zaobserwowano zależny od interferonu gamma (IFNG) wzrost ekspresji mRNA chemokin *CCL2*, *CCL5*, *CCL11*, *CXCL9* i *CXCL10* w komórkach zrębu, *CCL5* w komórkach nabłonka oraz *CXCL10* i *CXCL12* w komórkach śródbłonka w warunkach *in vitro*. Dodatkowo, wykazano wzrost ekspresji chemokiny *CXCL10* w komórkach nabłonka pod wpływem estradiolu (E2).

Wykazano ekspresję większości badanych chemokin (*CCL2*, *-4*, *-5*, *-8*, *CXCL2*, *-8*, *-10*, *-12*) oraz ich receptorów (*CCR1*, *-2*, *-3*, *-5*, *CXCR2*, *-3*, *-4*) w komórkach nabłonka powierzchniowego w warunkach *in vitro*. Badane chemokiny stymulowały proliferację komórek nabłonka. Ponadto, zaobserwowano dodatni wpływ chemokiny *CCL8* na migrację komórek nabłonka w gradiencie stężeń, jak również ich ruchliwość w środowisku ze stałą koncentracją tej chemokiny. Wykazano także obniżenie stopnia adhezji komórek nabłonka pod wpływem chemokiny *CCL8*. Chemokina *CXCL12* sprzyjała natomiast adhezji komórek nabłonka, korespondując tym samym z obniżoną

ekspresją genu *MUC1*. Dodatkowo, zanotowano obniżoną ekspresję mRNA *TJP1* pod wpływem chemokiny CCL2 oraz obniżenie ekspresji *TJP1* i *SPP1* pod wpływem CCL5.

Wykazano ekspresję wszystkich badanych chemokin i ich receptorów w komórkach zrębu w warunkach *in vitro*. Zaobserwowano pozytywny wpływ chemokin na zdolność proliferacji komórek zrębu, a także stymulujące działanie chemokin CCL2 i CXCL12 na migrację komórek w gradiencie stężeń. Dodatkowo zaobserwowano obniżenie ekspresji mRNA *VEGFC* w komórkach zrębu po zadziaaniu chemokin CXCL9, -10 i -12, a także istotny spadek ekspresji białka VEGFC w komórkach zrębu pod wpływem CXCL12.

W komórkach śródbłónka hodowanych w warunkach *in vitro*, nie poddawanych żadnym stymulacjom, poziom ekspresji mRNA chemokin *CXCL9* i *CXCL10*, a także ich receptora *CXCR3* był nieoznaczalny. Potwierdzono natomiast obecność pozostałych badanych chemokin i ich receptorów w komórkach śródbłónka. Wykazano, iż chemokiny CCL4 i CCL8 stymulują zarówno proliferację jak i migrację komórek śródbłónka naczyń. Ponadto, zaobserwowano także pozytywne oddziaływanie chemokin *CXCL2* i *CXCL8* na właściwości proliferacyjne komórek śródbłónka. Analiza tworzenia struktur kapilaro- podobnych wykazała hamujący efekt na liczbę utworzonych węzłów, połączeń oraz segmentów między komórkami śródbłónka pod wpływem chemokin *CXCL8*, *CXCL10* i *CXCL12*.

Podsumowując, badania będące przedmiotem niniejszej pracy doktorskiej dostarczyły nowych danych na temat zaangażowania chemokin w dialog pomiędzy matką a zarodkiem świni. Wykazano, że zarówno komórki trofoblastu jak i komórki błony śluzowej macicy są zdolne do produkcji chemokin, które z kolei uczestniczą w przebudowie błony śluzowej macicy w okresie wczesnej ciąży.