

Podstawową funkcją gonady żeńskiej jest produkcja hormonów steroidowych oraz gotowych do zapłodnienia komórek rozrodczych (oocytów), co jest warunkiem przedłużania, a tym samym istnienia gatunku. Funkcjonalną jednostką jajnika ssaków jest pęcherzyk jajnikowy, który składa się z oocytu oraz somatycznych komórek ziarnistych i komórek osłonki. Formowanie pierwszych pęcherzyków jajnikowych, nazywanych pęcherzykami pierwotnymi, ma miejsce w okresie życia płodowego lub neonatalnego. Utworzona w tym okresie pula pęcherzyków pierwotnych stanowi odpowiedzialną za potencjał rozrodczy samicy tzw. „rezerwę jajnikową”, która reprezentuje określoną na resztę życia samicy całkowitą ilość oocytów. Proces rozwoju i wzrostu pęcherzyka jajnikowego, czyli folikulogeneza, rozpoczyna się od chwili rekrutacji pęcherzyka pierwotnego i trwa do momentu owulacji lub jego degeneracji (atrezji). Mechanizmy regulujące proces rekrutacji, wzrostu i rozwoju pęcherzyka są pod kontrolą hormonów i produkowanych lokalnie, w tym przez sam pęcherzyk, czynników wzrostu. Po owulacji komórki pęcherzyka jajnikowego przekształcają się w tymczasowy gruczoł dokrewny, ciało żółte. Produkuje on hormony steroidowe, głównie progesteron, który jest niezbędny do przygotowania błony śluzowej macicy do zagnieżdżenia zarodka. W ostatnich latach szczególną uwagę poświęca się obecnym w środowisku związkom aktywnym endokrynnie, które zaburzają funkcjonowanie układu rozrodczego. Związki te pochodzą z wielu źródeł (przemysłu rolniczego, chemicznego i farmaceutycznego) i poprzez zdolność łączenia się z receptorami hormonów steroidowych mogą naśladować lub hamować działanie endogennych hormonów. Powszechnie wiadomo, że podstawą prawidłowego funkcjonowania organizmu jest homeostaza hormonalna. Wykazano, że wiele obserwowanych w okresie dojrzałości płciowej nieprawidłowości związanych z rozrodem może wiązać się z zaburzeniami rozwoju w okresie neonatalnym. Dlatego istotne jest zachowanie równowagi pomiędzy poziomem androgenów i estrogenów w jajniku już w okresie neonatalnym. Z tego powodu ekspozycja na nadmiar lub niedobór androgenów i estrogenów w tym krytycznym okresie może prowadzić do zaburzeń obserwowanych u dorosłych osobników. Stąd zbadanie efektów neonatalnej ekspozycji na związki, które antagonizują lub naśladują działanie androgenów lub estrogenów pozwoli na określenie ich roli w dojrzewaniu pęcherzyka jajnikowego i funkcjonowaniu ciała żółtego. Nasze wcześniejsze badania wykazały, że ograniczone działanie androgenów u neonatalnych świń zaburzało rozwój pęcherzyków jajnikowych oraz tworzenie się i funkcje ciałek żółtych w okresie dojrzałości płciowej. Bazując na tych wynikach, celem prezentowanego projektu jest uzyskanie nowych informacji o możliwym wpływie nadmiaru lub niedoboru androgenów i estrogenów w okresie neonatalnym, poprzez zastosowanie wybranych związków aktywnych endokrynnie, na czynniki zaangażowane w regulację folikulogenezy oraz na funkcjonowanie ciała żółtego (produkcję hormonów steroidowych i epigenetyczne zmiany kontrolujące ekspresję genów w ciałku żółtym). Obecnie zjawiska epigenetyczne są bardzo intensywnie badane. Modyfikacje epigenetyczne prowadzą do wyłączenia lub włączenia ekspresji genów i mogą być wrażliwe na zmiany w środowisku zewnętrznym, również na działanie związków aktywnych endokrynnie. Molekularny mechanizm tego zjawiska obejmuje metylację DNA, modyfikację histonów i funkcje cząsteczek mikroRNA (miRNAs). Metylacja DNA prowadzi do wyciszenia ekspresji genów i przeprowadzana jest przy udziale enzymów, metylotransferaz DNA (DNMT): DNMT1, DNMT3a i DNMT3b, z których wszystkie będą badane w prezentowanym projekcie. Drugi ważny mechanizm epigenetyczny jest związany z obecnością cząsteczek niekodującego RNA, miRNA, o długości około 22 nukleotydów, których główną funkcją jest posttranskrypcyjna regulacja docelowych mRNA. Ekspresja tych cząsteczek jest tkankowo-specyficzna i zależna od etapu rozwoju, co sugeruje ich zaangażowanie w specyficzny dla danej komórki profil ekspresji białek. Miejsce wiązania miRNA do docelowego mRNA występuje głównie w nieulegającym translacji rejonie 3' UTR, co skutkuje zahamowaniem translacji regulowanego w ten sposób mRNA. W celu zrealizowania założeń projektu zastosowane zostaną metody molekularne, w tym sekwencjonowanie nowej generacji (NGS), a w serii doświadczeń przeprowadzonych na materiale uzyskanym od zwierząt po osiągnięciu dojrzałości płciowej planujemy zbadać długoterminowy efekt narażenia w okresie neonatalnym na badane związki aktywne endokrynnie na: (1) morfologię jajnika, (2) poziom hormonów, w tym AMH w osoczu, (3) ekspresję FSHR oraz produkowanych lokalnie czynników jajnikowych i ich receptorów, które zaangażowane są w regulację rozwoju pęcherzyka jajnikowego, (4) funkcjonowanie ciała żółtego oraz (5) ekspresję DNMTs i profil miRNAs w komórkach lutealnych. Określenie długofalowych i nieodwracalnych skutków narażenia na nadmiar lub niedobór steroidów w okresie neonatalnym na funkcjonowanie jajnika w okresie dojrzałości płciowej przyczyni się do poszerzenia wiedzy na temat potencjału reprodukcyjnego samicy, co wydaje się być istotne w świetle doniesień o wzrastającej ekspozycji na obecne w środowisku substancje o działaniu hormonalnym. Ponadto świnię dzięki szczególnemu podobieństwu do człowieka pod względem anatomicznym i fizjologicznym uznawane są za doskonały model badawczy.