

## POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Progesteron (P4) jest hormonem steroidowym, który dzięki wielokierunkowemu działaniu uczestniczy w regulacji cyklicznych zmian w układzie rozrodczym samicy oraz zapewnia odpowiednie warunki dla implantacji blastocysty i rozwoju ciąży u wielu gatunków ssaków. Fizjologiczny wpływ P4 na komórki odbywa się przez jego receptory jądrowe (PGR), oraz na drodze pozagenomowej przez receptory błonowe: PGRMC (*progesterone receptor membrane component*) i mPR (*membrane progesterin receptor*). O ile droga genomowego oddziaływania jest dość dobrze poznana, o tyle rola i drogi pozagenomowego działania tego hormonu w czynności układu rodnej samicy nie są w pełni wyjaśnione. Dlatego też, celem naukowym projektu jest:

- (a) określenie funkcji receptorów błonowych P4: PGRMC i mPR w regulacji czynności macicy,
- (b) zidentyfikowanie szlaków przekazu sygnałów przez te receptory wraz z udziałem interakcji wybranych szlaków sygnalizacyjnych, oraz
- (c) zdefiniowanie procesów komórkowych regulowanych przez te receptory w warunkach fizjologicznych w błonie śluzowej macicy krowy.

Materiałem badawczym będą komórki (i) nabłonka powierzchniowego endometrium, (ii) śródbłonna naczyń krwionośnych endometrium krowy (iii) linia komórkowa: EnCL-1 (*bovine luteal endothelial cell lines*) i/lub (iv) skrawki endometrium. Badania będą nakierowane na identyfikację wewnątrzkomórkowych mechanizmów działania P4 poprzez receptory błonowe, ich rolę w modulacji szlaków sygnalizacyjnych, wpływ na ekspresję genów oraz regulację procesów sekrecyjnych i proliferacyjnych komórek endometrium oraz śródbłonna naczyń krwionośnych macicy. Zamierzamy określić funkcje receptorów PGRMC i mPR w komórkach endometrium i/ lub linii EnCL wyciszając geny tych receptorów z zastosowaniem transfekcji komórek siRNA a także farmakologicznej modyfikacji działania receptorów PGRMC i mPR z użyciem dostępnego agonisty mPR $\alpha$ , antagonisty PGRMC i/ lub koniugatu P4-BSA. Następnie stosując analizę sekwencjonowania nowej generacji (NGS) zidentyfikujemy geny regulowane przez PGRMC oraz mPR w komórkach kontrolnych i wyciszonych. W kolejnym etapie określimy udział tych receptorów w czynności sekrecyjnej i proliferacyjnej komórek endometrium i/ lub EnCL oraz zidentyfikujemy wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe modulowane przez P4 w badanych komórkach. Do badań zostaną techniki biologii molekularnej m.in analiza Real Time PCR, Western blot, sekwencjonowanie nowej generacji, analiza genów reporterowych, mikroskopia i techniki time-laps do analizy proliferacji, migracji, apoptozy, angiogenezy oraz metody analiz immunohistochemicznych i immunoenzymatycznych.

Wyniki uzyskane w tych badaniach będą zawierały elementy nowatorskie, dlatego spodziewamy się że będą one stanowić istotne poszerzenie wiedzy z zakresu endokrynologii i fizjologii rozrodu. Ponadto, będą one stanowiły uzupełnienie naszych wcześniejszych badań nad wpływem P4 na czynność komórek macicy i jajnika, na tkankach krowy zastosowanych jako model badawczy. Określenie wpływu i drogi działania P4 przez jego receptory błonowe na czynność macicy, może stanowić podstawę dla pełniejszego zrozumienia zmian fizjologicznych i patologicznych zachodzących w układzie rodny samicy w czasie cyklu i ciąży. Zwłaszcza, że dysfunkcja CL i obniżony poziom P4 we krwi, mogą wpływać na tak zwaną wczesną zamieralność zarodków, która u zwierząt gospodarskich wynosi do 40%. Dlatego, wyjaśnienie mechanizmów regulujących funkcję tych narządów, na poziomie komórkowym i molekularnym ma istotne praktyczne znaczenie, zarówno u zwierząt, jak i ludzi.