

STRESZCZENIE

Hormony steroidowe (androgeny, estrogeny) są kluczowe dla prawidłowej regulacji rozwoju i funkcjonowania macicy. U ssaków, w okresie neonatalnym dochodzi do kształtowania endometrium oraz powstawania gruczołów macicznych w procesie zwanym adenogenezą. Wystąpienie nieprawidłowości w regulacji procesów fizjologicznych w pierwszych tygodniach życia, które są krytycznym stadium w ustalaniu potencjału rozrodczego, może prowadzić do anormalnego funkcjonowania macicy w wieku dorosłym oraz zmniejszenia sukcesu reprodukcyjnego. Na podstawie badań grupy Słomczyńskiej i Knapczyk-Stwory wiadomo, że neonatalna ekspozycja prosiąt na związki endokrynne (EACs) powoduje zakłócenia wczesnych wydarzeń formowania się jajników poprzez zmiany w ekspresji genów, w tym enzymów i receptorów steroidowych oraz zaburzenia apoptozy i tempo proliferacji. W jaki sposób hormony steroidowe odgrywają swoją kluczową rolę w kontroli rozwoju macicy są jednakże słabo poznane.

Dlatego też, głównym celem niniejszej pracy było wyjaśnienie wpływu neonatalnej ekspozycji na wybrane związki o działaniu androgennym/antyandrogennym i estrogenym/antyestrogenym na komórkowe oraz molekularne mechanizmy sieci regulacyjnej, stymulującej rozwój macicy u noworodków świń oraz wpływającej na receptywność i rekonstrukcję endometrium świń dojrzałych płciowo. Poszczególne cele badawcze skupiły się na receptywności macic, komórkach macierzystych, molekularnych podstawach procesów proliferacji i apoptozy oraz specyficznych szlakach przekazywania sygnałów: PI3K/Akt i MAPK/ERK. Cele pracy realizowane były w systemie *in vivo*, w którym określone związki o aktywności endokrynnej: propionat testosteronu (20 mg/kg masy ciała, flutamid (50 mg/kg m.c.), 4-tert-oktylofenol (100mg/kg m.c.), ICI 182,780 (400µg/kg m.c.), metoksychlor (100mg/kg m.c.) były podawane podskórnie w formie iniekcji między 1 a 10 dniem życia. Materiał do badań stanowiły macice pobrane od prosiąt w 11 dniu po urodzeniu oraz endometrium dojrzałych płciowo świń. W badaniach stosowano techniki molekularne i biochemiczne pozwalające na wykazanie zmian ekspresji genów na poziomie mRNA i białka oraz zmian fosforylacji badanych kinaz. Natomiast w celu lokalizacji badanych białek i kinaz białkowych w poszczególnych komórkach macicy wykorzystano techniki immunohistochemiczne.

Ocena histologiczna badanych tkanek wykazała zmiany morfologiczne wywołane działaniem określonych EACs w obrębie grubości endometrium oraz ilości gruczołów u świń

neonatalnych, jak i występowanie anomalii w budowie endometrium i naczyń krwionośnych oraz liczbie i rozmieszczeniu gruczołów u świń dorosłych. Podawane związki endokrynnie czynne wywołały zmiany na poziomie molekularnym, zaburzając ekspresję badanych genów zarówno na poziomie mRNA jak i białka u osobników neonatalnych i dorosłych. Jednakże, zmiany obserwowane u świń dojrzałych płciowo nie były tak częste i nie zawsze korelowały ze zmianami występującymi u prosiąt. W przypadku badanych markerów komórek macierzystych, nie zaobserwowano wpływu EACs na ekspresję genów na poziomie RNA. Nieliczne różnice obserwowano jedynie w lokalizacji komórkowej poszczególnych białek.

Podsumowując uzyskane wyniki można stwierdzić, że neonatalne iniekcje badanych EACs wpływają na rozwój i funkcjonowanie macicy u neonatalnych jak i dorosłych świń.

Małgorzata Sierżułska

Elżbieta Caga

SUMMARY

Steroid hormones (androgens, estrogens) are essential for the proper regulation of the development and functioning of the uterus. In mammals, during the neonatal period, the endometrium is shaping and uterine glands are forming through a process known as adenogenesis. The occurrence of abnormalities in the regulation of physiological processes in the first weeks of life, which is a critical period in determining reproductive potential, may lead to abnormal functioning of the uterus in adulthood and a reduction in reproductive success. Based on the Słomczyńska and Knapczyk-Stwora teams' research, it was established that neonatal exposure of piglets to endocrine active chemicals (EACs) disrupts the early phases of ovarian formation through changes in gene expression, including enzymes and steroid receptors. Disturbances in apoptosis and proliferation rate were also observed. However, it still remains poorly understood how steroid hormones control uterine development.

Therefore, the main aim of this study was to determine the effect of neonatal exposure to selected compounds with androgenic/antiandrogenic and estrogenic/antiestrogenic properties on the cellular and molecular mechanisms of the regulatory network stimulating uterine development in neonatal pigs and affecting the receptivity and reconstruction of the endometrium of sexually mature pigs. Specific research objectives were focused on uterine receptivity, stem cells, the molecular basis of proliferation along with apoptosis processes, and specific signal transduction pathways: PI3K / Akt and MAPK / ERK. The study was carried out in an *in vivo* system, in which piglets were subcutaneously injected with one of the specific endocrine active compounds: testosterone propionate (20 mg/kg body weight (bw)), flutamide (50 mg/kg bw), 4-tert-octylphenol (100 mg/kg bw), ICI 182,780 (400 µg/kg bw), methoxychlor (100 mg/kg bw) between postnatal day 1 and 10. The materials used for the study were the piglets' uteri on day 11 after birth and the endometrium of sexually mature pigs. The research contained molecular and biochemical techniques enabling demonstration of changes in gene expression at the mRNA and protein level as well as changes in phosphorylation of the kinases studied. Immunohistochemical techniques were used to localize studied proteins and protein kinases in individual uterine cells.

Histological evaluation of the tissues examined showed morphological changes caused by the action of specific EACs on the thickness of the endometrium and the number of glands in neonatal pigs. Additionally, the presence of anomalies in the structure of the endometrium and blood vessels, as well as changes in the number and distribution of glands were observed in adult pigs. The administered endocrine active compounds have caused changes at the

molecular level, disturbing the expression of the studied genes both at the mRNA and protein level in neonatal and adult individuals. However, changes observed in sexually mature pigs were not frequent and rarely correlated with changes in piglets. Noteworthy, EACs caused no changes in gene expression on mRNA level in the investigated stem cell markers. Only a few differences were observed in the cellular localization of individual proteins.

Summarizing the results obtained, it can be concluded that neonatal exposure to the studied EACs affects the development and functioning of the uterus in neonatal and adult pigs.

Prava Singh

Elvira Ciga