

* Niepotrzebne usunąć

Załącznik:

Streszczenie pracy doktorskiej z akceptacją promotora

Androgeny, w tym testosteron, odgrywają kluczową rolę w regulacji męskich funkcji reprodukcyjnych, wywołując biologiczne efekty dzięki wiązaniu z receptorami androgenowymi. Głównym źródłem wewnątrzjądrowego testosteronu są komórki Leydiga, które syntetyzują androgeny (w tym testosteron) z cholesterolu. Transport cholesterolu do mitochondriów i kolejne konwersje steroidów do testosteronu wymagają obecności specyficznych białek i enzymów. Należy podkreślić, że prawidłowa produkcja androgenów jest uwarunkowana stanem strukturalnym komórek Leydiga, a każde zaburzenie dostępu tych hormonów może wpływać na aktywność sekrecyjną tych komórek. Dlatego, głównym celem niniejszej pracy było poznanie i wyjaśnienie wpływu zablokowania sygnalizacji androgenowej na aktywność i ultrastrukturę komórek Leydiga.

Doświadczenia w układzie *in vivo* prowadzono na dorosłych samcach szczurów szczepu Wistar, u których ograniczono dostępność androgenów poprzez zastosowanie flutamidu. Badania w układzie *in vitro* prowadzono na hodowli pierwotnej szczurzych komórek Leydiga (PRLC) oraz linii mysich komórek TM3. W celu określenia roli receptorów androgenowych (jądrowego - AR i błonowego - ZIP9) w regulacji aktywności komórek Leydiga inkubowano je z testosteronem i/lub anty-androgenami (hydroksyflutamidem i bikalutamidem), albo wyciszano ekspresję genów receptorów Ar i Zip9. Aby uwidocznić lokalizację i zmiany ekspresji badanych białek wykorzystano analizy immunohistochemiczne, western blot i RTq-PCR. Do oceny poziomu wybranych hormonów posłużyła metoda immunoenzymatyczna. Dodatkowo, ultrastrukturę komórek oceniano w mikroskopie elektronowym i na podstawie tej analizy wykonano komputerowe rekonstrukcje 3D, pozwalające na ocenę wzajemnej relacji organelli wewnątrz pojedynczych komórek.

Analiza histologiczna półcienkich skrawków jąder szczurów uwidoczniała znamienne powiększenie cytoplazmy komórek Leydiga. Wykazano, iż zaburzenie sygnalizacji androgenowej prowadzi do podniesienia stężeń hormonu luteinizującego, cholesterolu i testosteronu w osoczu krwi. Co istotne, notowano również zwiększony poziom wewnątrzjądrowego testosteronu i estradiolu wyraźnie korelujący ze zwiększoną ekspresją genów kodujących białka zaangażowane w przebieg pierwszego etapu biosyntezy testosteronu i jego metabolizmu do estrogenów.

Zwiększenie aktywności steroidogennej komórek Leydiga, wskutek zablokowania sygnalizacji androgenowej, obejmowało również zmiany ekspresji adipokiny: apelininy, waspiny, chemeryny i ich receptorów (APLNR, GRP78, CCRL2, CMKLR1, GPR1). Dodatkowe analizy prowadzone w systemie *in vitro* uwidocznily rolę androgenów w kontroli funkcji badanych adipokiny w jądrze oraz udział receptorów AR i ZIP9 w specyficznej regulacji ich ekspresji.

Analiza ultrastrukturalna pozwoliła na obserwację różnorodnych zmian w budowie i rozmieszczeniu mitochondriów w badanych komórkach, co potwierdzono stosując analizy morfometryczne. Analizy te wykazały zwiększoną liczbę mitochondriów oraz znaczące zwiększenie zajmowanej przez nie przestrzeni w komórce. Wzajemne relacje między organellami komórkowymi, wizualizowane dzięki komputerowym rekonstrukcjom 3D komórek Leydiga, uwidocznily powstanie lokalnych sieci mitochondrialnych. Obrazy te wyraźnie korespondowały z obserwowanymi w modelach *in vivo* i *in vitro* zmianami ekspresji białek Drp1, Mfn2 i Tom20, zaangażowanych w dynamikę tych organelli, co świadczy o

androgeno-zależnej regulacji procesów fuzji i fragmentacji mitochondriów w komórkach Leydiga, realizowanej dzięki aktywności receptorów AR i/lub ZIP9.

Wyniki niniejszej pracy wskazują zatem, że zablokowanie sygnalizacji androgenowej indukuje mechanizm kompensacyjny, prowadzący do nasilenia steroidogennej funkcji komórek Leydiga, pokazując równocześnie potencjalną rolę homeostazy mitochondriów w regulacji biosyntezy androgenów.



Małgorzata Broszkównia