

Streszczenie w języku polskim

Estrogeny są równie istotne w rozwoju męskiego układu rozrodczego, co androgeny. Odpowiednia produkcja estrogenów, których stężenie w organizmie samca jest dużo niższe niż androgenów, ma kluczowe znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania gonady męskiej. Jak obecnie wiadomo, istnieją trzy typy receptorów mediujących sygnalizację estrogenową tj.: klasyczne receptory estrogenowe (ER, z ang. *estrogen receptor*), błonowy receptor estrogenowy sprzężony z białkami G (GPER, z ang. *G-protein coupled estrogen receptor*) oraz receptory pokrewne receptorom estrogenowym (ERR, z ang. *estrogen related receptor*). Co istotne, wymienione receptory mogą wchodzić w interakcje ze sobą lub z receptorami aktywowanymi przez proliferatory peroksysomów (PPAR, z ang. *peroxisome proliferator-activated receptor*), które regulują metabolizm komórkowy. Zaburzenie sygnalizacji estrogenowej może wpływać na funkcjonowanie komórek gonady, a nawet prowadzić do rozwoju nowotworów. Celem niniejszej pracy było określenie wpływu nieklasycznej sygnalizacji estrogenowej na funkcję komórek jądra, z uwzględnieniem regulacji ekspresji genów i procesów epigenetycznych.

Jako materiał badawczy wykorzystano: myszy szczepu C57BL/6 w modelu *in vivo*, fragmenty jąder niedojrzałych świń w modelu *ex vivo*, fragmenty ludzkich guzów komórek Leydiga i hodowane *in vitro* zdrowe ludzkie komórki Leydiga oraz mysią linię nowotworowych komórek Leydiga MA-10 w modelu *in vitro*. W celu określenia funkcji badanego receptora w komórkach jądra, w zależności od eksperymentu farmakologicznie zablokowano lub aktywowano wybrany receptor używając: antagonistę ERR α (XCT790), antagonistę GPER (G-15), agonistę ERR β/γ (DY 131) oraz selektywnego antagonistę PPAR α (GW6471) i antagonistę PPAR γ (T0070907). Do opisanego wpływu metaloestrogenu na mysie komórki Leydiga użyto selenin sodu w różnych stężeniach. Wszystkie zastosowane dawki zostały wybrane na podstawie dostępnych danych literaturowych oraz eksperymentów pilotażowych.

W badaniach zastosowano technikę sekwencjonowania RNA (RNA-seq z ang. *RNA sequencing*) pozwalająca na całościowe opisanie ekspresji mRNA w badanej próbce, uzupełnioną o bioinformatyczną analizę funkcjonalną służącą do opisu funkcji zidentyfikowanych genów, ich interakcji, a także interakcji produktów białkowych. Wykorzystano także analizy mikroskopowe, molekularne i biochemiczne pozwalające na opisanie zmian ekspresji mRNA (qRT-PCR) i zmian ekspresji białka (Western Blot), uwidocznienie lokalizacji białek w komórce (immunocytofluorescencja) oraz określenie stężenia wydzielanych hormonów (ELISA).

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że farmakologiczne zablokowanie lub aktywacja ERR lub GPER powoduje zmiany w transkryptomie komórek jądra myszy. Wykazano, że zablokowanie ERR α powodowało podwyższoną ekspresję genów zaangażowanych w odpowiedź immunologiczną, a aktywacja ERR β/γ zwiększała ekspresję genów związanych z potranslacyjną modyfikacją białek. Zablokowanie aktywności GPER wpłynęło na ekspresję pojedynczych genów, których nie można było wspólnie przypisać do jednego procesu [**Publikacja 1**]. Z kolei w eksplantach jądra świni, jedynie modulacja aktywności PPAR γ spowodowała zmiany w ekspresji grup genów powiązanych z metabolizmem, adhezją i procesem tworzenia kanalików. Zablokowanie aktywności PPAR α i GPER doprowadziło do zmian ekspresji genów nie zaangażowanych w żadne istotne procesy komórkowe [**Publikacja 2**]. Porównanie transkryptomów zdrowych, ludzkich komórek Leydiga z guzami komórek Leydiga wykazało, że w guzach zakłóceniu ulega ekspresja genów związanych z sygnalizacją estrogenową, apoptozą i rozwojem naczyń krwionośnych. Odnotowano także, zaburzoną ekspresję homologicznych genów co w transkryptomie myszy po farmakologicznej modulacji nieklasycznej sygnalizacji estrogenowej [**Publikacja 3**]. Przeprowadzone badania w modelu *in vitro*, po raz pierwszy udowodniły, że selen jako metaloestrogen oddziałuje na ekspresję GPER. Dodatkowo, wysokie stężenie selenu

powodowało zmiany w statusie epigenetycznym komórek, a w niektórych komórkach doprowadzało do pęknięć DNA [**Publikacja 4**].

Podsumowując, na podstawie przeprowadzonych badań można wnioskować, że zaburzenie transmisji sygnału z udziałem estrogenów istotnie wpływa na transkryptom komórek jądra i może być przyczyną powstawania chorób gonady. Metaloestrogeny oddziałują na epigenom i modulują ekspresję klasycznych i nieklasycznych receptorów estrogenowych. Otrzymane w niniejszej pracy wyniki, mogą pomóc w wyjaśnieniu procesów zachodzących komórkowych gonady regulowanych przez ERR, GPER i PPAR. Badania te w przyszłości przysłużyc się mogą do stworzenia terapii i diagnostyki hormonozależnych nowotworów jądra.

Kokula - Bodale

Michał Dabrowski