

Streszczenie

Prowadzone od lat badania nad patogenezą zatrzymania łożyska u krów nie wyjaśniły jak dotąd mechanizmów odklejania od siebie części macicznej i płodowej w czasie porodu, jak również tworzenia połączenia pomiędzy matką a zarodkiem podczas implantacji i placentacji. Jako możliwe przyczyny zatrzymania błon płodowych rozważa się między innymi zmiany profilu hormonalnego, stres oksydacyjny, zaburzenia genetyczne oraz niedobory dietetyczne. Na podstawie dostępnej literatury można wnioskować, że w celu poznania mechanizmów zachodzących w warunkach fizjologicznych i patologicznych, należy skupić się na analizie zakresu zmian zachodzących w trakcie przebudowy tkanki łącznej oraz na zbadaniu czynników wpływających na zmiany ilości białek i ich aktywności na poziomie lokalnym i centralnym.

We wczesnej ciąży i w okresie okołoporodowym obserwuje się istotne zmiany w składzie i dystrybucji składników macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. *extracellular matrix*, ECM). ECM, zwana również substancją pozakomórkową, składa się głównie z glikoprotein i proteoglikanów, zapewniając tym samym odpowiednie środowisko dla komórek łożyska. Poza funkcją strukturalną jej rola polega też na regulacji procesów fizjologicznych i patologicznych poprzez udział w sygnalizacji, proliferacji, migracji oraz inwazji komórek. Głównym białkowym składnikiem ECM są kolageny i fibronektyna, które biorą udział w dojrzewaniu łożyska i prawidłowym rozwoju ciąży. ECM jest również bogatym źródłem proteoglikanów, które poprzez interakcje z receptorami powierzchniowymi komórek modulują ich migrację, proliferację, różnicowanie i adhezję. Jednym z takich białek jest dekoryna (ang. *decorin*, DCN), niskocząsteczkowy bogaty w leucynę proteoglikan o masie około 100 kDa, złożony z rdzenia białkowego (około 40 kDa) i łańcucha glikozaminoglikanów, który dodatkowo może być glikozylowany. W warunkach fizjologicznych białkowy rdzeń dekoryny i jego łańcuch cukrowy mogą pełnić odrębne funkcje, a zmiany w ekspresji genów tego białka mogą być związane z dojrzewaniem łożyska i rozwojem ciąży. Rola dekoryny w przebudowie łożyska polega między innymi na regulacji stężenia kolagenów na poziomie transkrypcji i translacji, modulowaniu aktywności kolagenaz oraz stabilizacji błon płodowych we wczesnych etapach rozwoju płodu i w późniejszej ciąży. Na podstawie dostępnych źródeł informacji przypuszcza się, że białko to może uczestniczyć nie tylko w przyleganiu łożyska w czasie ciąży, ale także jego wydaleniu podczas porodu. Mechanizm ten jednak nie jest do końca poznany.

Przez cały czas trwania ciąży komórki łożyska znajdują się pod ścisłą kontrolą hormonalną, która reguluje stężenie i aktywność swoistych białek. Wśród hormonów, których stężenia w krwioobiegu i błonach płodowych zmieniają się w czasie ciąży znajduje się progesteron i prostaglandyna $F_{2\alpha}$. Hormony te różnią się budową i regulują odmienne szlaki sygnałowe, zatem pełnią odmienne funkcje w tkance łożyska.

Biorąc pod uwagę brak jednoznacznych informacji na temat roli dekoryny, progesteronu i $PGF_{2\alpha}$ w adhezji komórek łożyska w czasie ciąży u krów, postanowiono zweryfikować hipotezę badawczą o możliwym ich wpływie na adhezję komórek endometrium ciężarnej macicy. Ponadto, opierając się na licznych doniesieniach o znaczącym wpływie procesu glikozylacji w czasie ciąży, postanowiono również ocenić wpływ inhibitorów tego procesu na proces adhezji. W tym celu jako model do badań wykorzystano samodzielnie wyprowadzone linie komórek nabłonkowych, będących bezpośrednim miejscem styku części maczynej i płodowej łożyska. Komórki inkubowano z dekoryną, progesteronem, $PGF_{2\alpha}$ oraz inhibitorami glikozylacji - 2-acetamido-2-deoksy- α -D-galaktopiranozydem i tunikamycyną, po czym przeprowadzono test adhezji do macierzy fibronektynowej.

Uzyskane w niniejszej pracy wyniki wskazują, że dekoryna wpływa na adhezję komórek endometrium ciężarnej macicy u krów. Tym samym przeprowadzone analizy pozwoliły na pozytywne zweryfikowanie hipotezy badawczej. Inkubacja komórek z dekoryną i prostaglandyną $F_{2\alpha}$ zmniejsza adhezję komórek do macierzy fibronektynowej. Progesteron nie wpływa na adhezję komórek, ale maskuje antyadhezyjne właściwości dekoryny. Ponadto stwierdzono, że proces glikozylacji moduluje adhezję komórek endometrium ciężarnej macicy u krów. N-glikozylacja zdaje się być istotną modyfikacją białek dla procesów przylegania, gdyż zastosowanie jej inhibitora – tunikamycyny hamuje adhezję komórek endometrium ciężarnej macicy u krów. Z kolei O-glikozylacja może być czynnikiem ograniczającym adhezję komórek - podanie jej inhibitora - benzyl 2-acetamido-2-deoksy- α -D-galaktopiranozydu - stymuluje adhezję badanych komórek.

Otrzymane wyniki potwierdzają postawione w niniejszej pracy doktorskiej hipotezy badawcze o modulującym wpływie dekoryny, progesteronu, prostaglandyny $F_{2\alpha}$ i procesu glikozylacji na adhezję komórek endometrium u krów w czasie ciąży.

Słowa kluczowe: Łožysko, dekoryna, ciąża, adhezja, krowa