



**Mgr PATRYCJA MAGDALENA MŁOTKOWSKA**

**EKSPRESJA WYBRANYCH AKWAPORYN W KOMÓRKACH PĘCHERZYKA  
JAJNIKOWEGO ŚWINI (*Sus scrofa f. domestica*)**

Praca doktorska wykonana w Katedrze Fizjologii Zwierząt  
Wydziału Biologii i Biotechnologii, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego

Promotor: *dr hab. n. wet. Mariusz Skowroński, prof. UWM*  
Promotor pomocniczy: *dr Agnieszka Skowrońska*

**STRESZCZENIE**

Szybki i masowy transport wody przez błonę białkowo-lipidową jest możliwy dzięki obecności wyspecjalizowanych kanałów określanych, jako akwaporyny (AQPs). Białka te stanowią system kontroli przepływu wody szczególnie w jajnikach, jajowodach, macicy, łożysku i błonach płodowych dla utrzymania prawidłowych funkcji rozrodczych, implantacji embrionów oraz wzrostu i rozwoju płodu. Kompleksową kontrolę hormonalną nad procesem reprodukcji samic sprawuje oś podwzgórze–przysadka–jajnik–macica. Hormony przysadkowe takie jak hormon folikulotropowy (FSH), luteinizujący (LH), prolaktyna (PRL) i hormon wzrostu (GH) oddziałują na jajnik jego czynność w czasie cyklu estralnego i ciąży.

W niniejszej pracy badano, zatem rolę hormonów FSH, LH, PRL i GH na ekspresję akwaporyn 1, 5 i 9 w jajnikach świni z 2-4, 10-12, 14-16 i 18-20 dnia cyklu oraz ciężarnych z 14-16 i 30-32 dnia ciąży. W warunkach *in vivo* badano ekspresję genu i białka AQP1, 5 i 9 w pęcherzykach jajnikowych, natomiast w warunkach *in vitro* badano 1) wpływ FSH, LH, PRL i GH na ekspresję genu i białka AQP1, 5 i 9 w komórkach ziarnistych i osłonki wewnętrznej pochodzących ze średnich (10-12 dzień) cyklu i dużych pęcherzyków jajnika (16-18 dzień); 2) wpływ FSH, LH, PRL i GH na subkomórkową dystrybucję białka AQP1, 5 i 9 w komórkach ziarnistych i osłonki wewnętrznej uzyskanych ze średnich i dużych pęcherzyków; 3) wpływ FSH, LH, PRL i GH na objętość komórek ziarnistych i osłonki wewnętrznej przy zastosowaniu inhibitora akwaporyn (PMB) wpływ FSH, LH, PRL i GH na ekspresję badanych AQPs w kokulturach komórek ziarnistych i osłonki wewnętrznej w wymienionych dniach cyklu.

Istotny wzrost ekspresji białka AQP1 i 5 wykazano w 18-20 dniu cyklu. Immunolokalizację białka AQP1 stwierdzono w komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych jajnika, natomiast AQP5 i 9 w komórkach ziarnistych. Podstawowa ekspresja genu *Aqp1*, 5 i 9 w pęcherzykach jajnika

w badanych dniach cyklu i ciąży nie różniła się. Różnice w ekspresji badanych genów pojawiły się w komórkach ziarnistych i osłonki wewnętrznej pęcherzyka. Stwierdzono istotnie wyższą ekspresję genu *Aqp1* w komórkach ziarnistych i osłonki z dnia 14-16 cyklu, a *Aqp5* w 10-12 i 18-20 dniu cyklu. Natomiast ekspresja genu *Aqp9* była istotnie wyższa w dniach 10-12 i 18-20 cyklu w komórkach ziarnistych. Największą ekspresję białka AQP1 i AQP5 w komórkach ziarnistych i osłonki wewnętrznej średnich i dużych pęcherzyków wykazano w części okołojądrowej cytoplazmy i endosomach oraz w błonie cytoplazmatycznej zarówno w komórkach kontrolnych jak i stymulowanych FSH, LH, PRL i GH. W środowisku hipotonicznym objętość komórek ziarnistych i osłonki ze średnich i dużych pęcherzyków w warunkach kontrolnych i pod wpływem FSK, LH, PRL i GH zwiększała się istotnie w porównaniu do objętości komórek na początku doświadczenia. Bloker akwaporyn (PMB) skutecznie wstrzymywał transport wody do badanych komórek. Ekspresja mRNA *Aqp1* w kokulturach komórek ziarnistych ze średnich pęcherzyków była istotnie wyższa w odpowiedzi na FSH i GH w dużych pęcherzykach. Ponadto ekspresja mRNA *Aqp1* w komórkach osłonki wewnętrznej ze średnich pęcherzyków jajnikowych była istotnie regulowana przez LH i GH kolei oraz przez LH w dużych pęcherzykach. Ekspresja genu *Aqp5* w kokulturach komórek ziarnistych z pęcherzyków dużych była istotnie wyższa po inkubacji z LH, PRL i GH. Ekspresję mRNA *Aqp5* w kokulturach komórek osłonki wewnętrznej z pęcherzyków średnich i dużych pobudzał LH oraz PRL w komórkach osłonki z pęcherzyków średnich. Wykazano istotny spadek poziomu ekspresji genu *Aqp9* w odpowiedzi na FSH, LH i PRL w kokulturach komórek ziarnistych z dużych pęcherzyków. Hamowanie ekspresji *Aqp9* wykazano również w kokulturach komórek osłonki wewnętrznej ze średnich pęcherzyków w wyniku działania LH i GH. Natomiast istotnie podwyższony poziom transkryptu tego genu stwierdzono w kokulturach komórek osłonki wewnętrznej z dużych pęcherzyków pod wpływem LH.