

STRESZCZENIE

ZMIANY W TRANSKRYPTOMIE KOMÓREK ZIARNISTYCH LINII AVG-16 PODDANYCH DZIAŁANIU 2,3,7,8-TETRACHLORODIBENZO-*P*-DIOKSYNY (TCDD)

mgr Agnieszka Sadowska

Praca doktorska została wykonana w Katedrze Fizjologii Zwierząt Wydziału Biologii i Biotechnologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie pod kierunkiem prof. dr hab. Renaty E. Ciereszko (promotor) i dr Anny Nyncy (promotor pomocniczy).

Rozprawa doktorska pt. „Zmiany w transkrypcji komórek ziarnistych linii AVG-16 poddanych działaniu 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioksyne (TCDD)” składa się z trzech prac opublikowanych w roku 2015 (1 – *Folia Biologica (Praha)*, 61: 184-194) i 2017 (2 – *Journal of Genetics*, 96: 75-85, doi: 10.1007/s12041-017-0745-3; 3 – *Chemosphere*, 178: 368-377; doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.03.055). Tematyka tych prac związana jest z receptorem węglowodorów aromatycznych (AhR) i mechanizmem działania 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioksyne (TCDD) w komórkach ziarnistych jajnika świni.

Receptor węglowodorów aromatycznych jest czynnikiem transkrypcyjnym należącym do rodziny bHLH-PAS (ang. basic helix-loop-helix-Per-ARNT-Sim), który występuje zarówno u bezkręgowców jak i kręgowców. U ssaków, ekspresję genu i białka receptora Ah odnotowano w wielu tkankach i narządach, w tym w strukturach układu rozrodczego (w komórkach ziarnistych pęcherzyków jajnikowych, ciałkach żółtych, stromie jajników, jajowodach oraz macicy). Pomimo że pierwsze badania nad receptorem Ah przeprowadzono już w latach 70. XX wieku, to gen AhR zsekwencjonowano i scharakteryzowano tylko u kilku gatunków zwierząt. U świni, chromosomowa lokalizacja genów AhR i jego jądrowego przenośnika – ARNT oraz pełna sekwencja ich transkryptów nie zostały do tej pory określone. AhR jest zaangażowany w transdukcję sygnału indukowanego przez niektóre ksenobiotyki, np. polichlorowane dibenzo-*p*-dioksyne (PCDD; dioksyne). Dioksyne powstają głównie jako produkt uboczny przemysłowej działalności człowieka. Wyróżnia się 75 kongenerów PCDD, z których 7 mających atomy chloru w pierścieniach benzenowych w pozycjach 2, 3, 7 i 8, wykazuje bardzo silne właściwości toksyczne. Największą toksycznością dla organizmów żywych charakteryzuje się 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioksyna (TCDD). Stopień toksyczności TCDD zależy od dawki, czasu i sposobu ekspozycji, gatunku zwierzęcia, rasy, płci, wieku oraz rodzaju tkanki czy komórki. TCDD wpływa negatywnie na wiele procesów fizjologicznych, zakłócając funkcjonowanie układu immunologicznego, nerwowego, wydalniczego, endokrynnego czy rozrodczego. Przebieg wielu procesów rozrodczych u samic jest zdeterminowany prawidłowym rozwojem

i funkcjonowaniem pęcherzyków jajnikowych. Komórki ziarniste m.in. poprzez produkcję hormonów steroidowych, odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu środowiska właściwego dla rozwoju oocytu oraz innych procesów rozrodczych takich jak owulacja, zapłodnienie, implantacja i ciąża. Obecność AhR w komórkach ziarnistych jajnika świni oraz udokumentowany wpływ TCDD na steroidogenezę sprawiają, że komórki ziarniste są doskonałym modelem do badania wpływu dioksyn i innych ksenobiotyków na funkcjonowanie jajnika. Ponieważ hodowle pierwotne komórek ziarnistych mają wiele ograniczeń, w doświadczeniach często używa się linii komórkowych wyprowadzonych z komórek ziarnistych ludzi, gryzoni i innych gatunków zwierząt. Obecnie, jedyną komercyjnie dostępną linią komórek ziarnistych świni jest linia komórkowa AVG-16.

Celem niniejszej pracy było: 1/ zbadanie cech fenotypowych, biochemicznych i molekularnych komórek linii AVG-16 wyprowadzonej z komórek ziarnistych jajnika świni w celu określenia jej przydatności do badań wpływu czynników środowiskowych na funkcjonowanie komórek ziarnistych; 2/ zbadanie struktury i chromosomowej lokalizacji genu receptora Ah i jego jądrowego przenośnika ARNT u świni oraz 3/ zbadanie wpływu TCDD na transkryptom komórek AVG-16. Przeprowadzone badania umożliwiły realizację postawionych celów oraz poszerzyły dotychczasową wiedzę na temat mechanizmu działania 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioksyny w komórkach ziarnistych jajnika świni. Na podstawie uzyskanych wyników badań sformułowano następujące wnioski:

1. Komórki AVG-16 wykazują duże podobieństwo do komórek innych linii wyprowadzonych z komórek ziarnistych świni i stanowią dobry model doświadczalny do badania wpływu czynników środowiskowych.
2. Występowanie wariantów cDNA AhR i ARNT może wpływać na specyficzną dla danej komórki odpowiedź determinowaną przez np. określony ligand receptora Ah, jego stężenie lub biochemiczny status komórki.
3. TCDD może zaburzać funkcjonowanie pęcherzyków jajnikowych świni poprzez wpływ na ekspresję genów związanych z proliferacją, różnicowaniem oraz cyklem komórkowym komórek ziarnistych.
4. Krótkotrwałe działanie TCDD (3 godziny) może indukować w komórkach ziarnistych procesy obronne poprzez zatrzymanie cyklu komórkowego i naprawę uszkodzonego DNA. Natomiast dłuższa ekspozycja komórek na TCDD może powodować śmierć komórek i atrezję pęcherzyków jajnikowych.
5. TCDD może powodować atrezję pęcherzyków jajnikowych świni wywołując śmierć komórek ziarnistych prawdopodobnie na drodze innej niż apoptotyczna.