

STRESZCZENIE

Podczas cyklu reprodukcyjnego ptaków jajnik i jajowód podlegają dynamicznym zmianom morfologicznym i funkcjonalnym. Po zakończeniu sezonu rozrodczego następuje przerwa w nieśności, której towarzyszy zmniejszenie stężenia hormonów steroidowych we krwi, regresja, a następnie odnowienie układu rozrodczego. Proces ten wymaga przebudowy tkanek, zachodzącej częściowo na drodze apoptozy. Hormonalna regulacja czynności jajnika i jajowodu jest dość dobrze poznana, natomiast molekularne mechanizmy remodelingu tych narządów pozostają słabo zbadane. Dotychczasowe informacje wskazują, że steroidy, głównie estrogeny, pełnią kluczową rolę w regulacji przebudowy tkanek układu rozrodczego ptaków, natomiast precyzyjne ich działanie i interakcje z innymi hormonami nie są w pełni wyjaśnione. Dlatego też, w niniejszej pracy postawiono następujące hipotezy badawcze: (1) różne szlaki apoptozy są zaangażowane w przebudowę tkanek układu rozrodczego ptaków podczas przerwy w aktywności rozrodczej, (2) hormon wzrostu (GH) bierze udział w regulacji remodelingu i funkcji układu rozrodczego w okresie przerwy w nieśności. Ponieważ istnieją przesłanki, że w czynność układu rozrodczego u ssaków są zaangażowane akwaporyny (AQPs), a udział tych białek w funkcjonowaniu układu rozrodczego ptaków jest bardzo słabo poznany, postawiono kolejną hipotezę, że: (3) akwaporyny są zaangażowane w regulację funkcjonowania układu rozrodczego ptaków podczas przerwy w nieśności. W celu weryfikacji powyższych hipotez badawczych postanowiono określić: (1) dynamikę apoptozy oraz ekspresję i aktywność najważniejszych markerów tego procesu w jajniku i jajowodzie kury podczas przerwy w nieśności wywołanej różnymi czynnikami, (2) ekspresję genów wybranych białek jaja podczas przerwy w nieśności, (3) wpływ egzogenego hormonu wzrostu na proces apoptozy, ekspresję receptorów steroidowych oraz ekspresję wybranych białek antyapoptotycznych, proapoptotycznych i funkcjonalnych w układzie rozrodczym kury podczas przerwy w nieśności, a także scharakteryzowano (4) zmiany ekspresji akwaporyny 4 (AQP4) w jajowodzie kury podczas przerwy w nieśności.

W trakcie przerwy w nieśności wywołanej głodem wykazano: a) zwiększenie aktywności poszczególnych kaspaz w stromie jajnika oraz zmniejszenie ich aktywności w pęcherzykach białych, b) wzrost ekspresji mRNA PCNA i surwiwiny w jajniku, c) zmniejszenie ekspresji mRNA białek żółtka jaja, tj. VTG2 i apoVLDL II w wątrobie. Podczas przerwy w nieśności wywołanej podawaniem TMX (bloker receptorów estrogenowych) stwierdzono: a) zwiększenie liczby komórek apoptotycznych w obrębie

magnum, cieśni i gruczołu skorupowego, b) wzrost ekspresji mRNA i aktywności kaspazy 2, 3, 8 i 9 we wszystkich odcinkach jajowodu, c) zwiększenie intensywności reakcji immunopoztywnej dla kaspazy 3 i 9 w ścianie jajowodu. W trakcie przerwy w nieśności wywołanej zarówno głodzeniem jak i traktowaniem TMX, obserwowano regresję jajowodu, której towarzyszyło: a) zwiększenie ekspresji mRNA owokaliksyny-36, b) zmniejszenie ekspresji mRNA awidyny, c) obniżenie poziomu transkryptów owoalbuminy i owokleidyny-116. Iniekcje chGH spowodowały: a) wzrost liczby pęcherzyków < 1 mm w jajniku kury w okresie jego regresji i odbudowy, b) zwiększenie stosunku komórek proliferujących do apoptotycznych na pęcherzyk < 1 mm w trakcie odbudowy jajnika, c) zmniejszenie aktywności kaspazy 3, 8 i 9 w pęcherzykach białych podczas odbudowy jajnika a zwiększenie ich aktywności w odnowionym jajniku po powrocie do nieśności, d) zmniejszenie ekspresji mRNA PCNA i surwiwiny w pęcherzykach białych w trakcie regresji jajnika, e) zwiększenie atrezji żółtych pęcherzyków hierarchicznych oraz f) wzmocnienie hamującego wpływu głodzenia na ekspresję mRNA białek żółtka jaja, tj. VTG2 i apoVLDL II w wątrobie. Podawanie chGH spowodowało również wzrost ekspresji mRNA ER β w wątrobie kury po powrocie do nieśności. Iniekcje chGH zniosły indukowane głodzeniem zmniejszenie stężenia progesteronu, testosteronu i estradiolu w osoczu krwi i tkankach jajowodu oraz wzmocniły wpływ głodzenia na ekspresję mRNA PR i ER α w magnum oraz ER β w gruczole skorupowym. W trakcie przerwy w nieśności wywołanej głodzeniem, chGH zmniejszył ekspresję mRNA awidyny i owoalbuminy w magnum oraz owokaliksyny-36 i owokleidyny-116 w gruczole skorupowym. Z kolei iniekcje tego hormonu spowodowały zwiększenie ekspresji mRNA owokaliksyny-32 w gruczole skorupowym podczas odbudowy jajowodu i owoalbuminy w magnum po wznowieniu aktywności rozrodczej. We wszystkich badanych odcinkach jajowodu kury wykazano ekspresję AQP4 na poziomie mRNA i białka. Największą ekspresję AQP4 obserwowano w lejku i pochwie, a najniższą w cieśni i magnum. Wykazano komórkowo- i tkankowo-specyficzną lokalizację AQP4 w ścianie jajowodu, a intensywność reakcji immunopoztywnej była zależna od odcinka jajowodu. U kur traktowanych TMX obserwowano zmniejszenie ekspresji AQP4 i immunoreaktywności dla białka AQP4 we wszystkich odcinkach jajowodu.

Wykazane zmiany w ekspresji i/lub aktywności kluczowych kaspaz inicjatorowych i wykonawczych w układzie rozrodczym kury podczas przerwy w aktywności rozrodczej indukowanej głodzeniem lub podawaniem TMX, wskazują na udział różnych szlaków apoptozy w procesie przebudowy jajnika i jajowodu w tym okresie. Zmiany w poziomie transkryptów wybranych specyficznym protein żółtka jaja w wątrobie i białka jaja

w jajowodzie oraz stężenia hormonów steroidowych we krwi podczas przerwy w nieśności wywołanej różnymi czynnikami sugerują zależność między działaniem steroidów jajnika, głównie estrogenów, a ekspresją genów kodujących białka jaja. Obserwowane zmiany w stężeniu hormonów steroidowych i ekspresji mRNA ich receptorów, a także w ekspresji genów i aktywności enzymów związanych z proliferacją i apoptozą komórek pod wpływem egzogenego chGH wskazują, że hormon ten warunkuje tempo regresji i odmłodzenia układu rozrodczego podczas przerwy w nieśności. GH stymulując proliferację i hamując apoptozę komórek najmniejszych pęcherzyków jajnikowych, promuje ich rozwój na wczesnym etapie folikulogenezy. Zmiany w ekspresji genów wybranych białek jaja w odpowiedzi na iniekcje chGH podczas przerwy w nieśności wywołanej głodem, sugerują jego udział w regulacji czynności sekrecyjnej wątroby i jajowodu związanej z tworzeniem jaja. Zależna od segmentu, tkanki i aktywności sekrecyjnej jajowodu ekspresja mRNA i białka AQP4 wskazuje na jej udział w regulacji transportu wody wymaganej do formowania jaja w jajowodzie kury. Ponadto, zmiany w ekspresji AQP4 na poziomie mRNA i białka po podaniu TMX, sugerują związek między działaniem estrogenów, a ekspresją tego genu.

05.06.2020

Joanna Soch