****

**mgr Monika Magdalena Baryła**

Rozprawa doktorska

**„*Znaczenie prokinetycyny 1 w procesach związanych z funkcją ciałka żółtego podczas wczesnej ciąży i cyklu rujowego u świni domowej (Sus scrofa domestica L.)*”**

**PROMOTOR**

***Prof. dr hab. Agnieszka Wacławik***

**PROMOTOR POMOCNICZY**

***Dr Piotr Kaczyński***

**Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności**

**Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie**

**RECENZENCI**

***Prof. dr hab. Dorota A. Zięba-Przybylska***

Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

***Prof. dr hab. Nina Smolińska***

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

***Dr hab. Piotr Pawlak***

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Rozprawa doktorska wykonana w Zespole Mechanizmów Działania Hormonów

Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie

w ramach projektu PRELUDIUM-18 (2019/35/N/NZ9/03986)

Olsztyn, 2025

**Streszczenie**

Ciałko żółte (CL) jest tymczasowym gruczołem endokrynnym powstającym po owulacji w miejscu pęcherzyka jajnikowego. Syntetyzuje i wydziela progesteron, który jest niezbędny dla prawidłowego przebiegu wczesnej ciąży, tj. dla implantacji zarodka w macicy oraz rozwoju łożyska. Zaburzenia w funkcjonowaniu CL, zarówno podczas cyklu rujowego/płciowego, jak i podczas ciąży, niosą ze sobą duże ryzyko obniżonej płodności oraz są jedną z przyczyn wysokiej śmiertelności zarodków podczas wczesnej ciąży u wielu gatunków ssaków, w tym również u świni. Ciałko żółte u świni, podobnie jak u krowy i kobiety, w przeciągu kilkunastu dni przechodzi etapy formowania się (wczesna faza lutealna), pełnej funkcjonalności (faza lutealna) oraz regresji (późna faza lutealna), co czyni go wyjątkowo energochłonną jednostką i wymaga od organizmu uruchomienia mechanizmów pozwalających zachować jego stabilność podczas ciąży. Mechanizmy te regulowane są m. in. przez hormony, czynniki wzrostu i cytokiny. Jednak procesy zaangażowane w podtrzymanie działalności ciałka żółtego i ich hierarchia nie zostały dotąd w pełni poznane. Wśród cząsteczek potencjalnie zaangażowanych w regulację czynności CL znajduje się peptyd – prokinetycyna 1 (PROK1), którego obecność stwierdzono w tkance ciałka żółtego u kobiety oraz krowy. Dotychczas PROK1 nie była badana w ciałku żółtym świni, brakowało też danych dotyczących roli tego czynnika podczas ciąży w tym gruczole u innych gatunków zwierząt. W związku z tym, celem badań było określenie roli PROK1 w regulacji funkcji CL świni domowej podczas cyklu rujowego oraz wczesnej ciąży.

W ramach niniejszej pracy określono profil ekspresji genu i białka PROK1 oraz jej receptorów w CL podczas wczesnej ciąży i cyklu rujowego. Wykazano, że poziom ekspresji genu i białka PROK1 oraz genu jej receptora 1 (*PROKR1*) wzrastał w ciałku żółtym w okresie, w którym dochodzi do zahamowania regresji CL i podtrzymania jego funkcji podczas wczesnej ciąży. Ekspresja genu receptora 2 prokinetycyny (*PROKR2*) zwiększała się w późnej fazie lutealnej. Analiza immunohistochemiczna wykazała obecność białek PROK1 i jej receptorów w komórkach steroidogennych oraz w komórkach śródbłonka naczyń krwionośnych (endotelialnych). W kolejnym etapie badań sprawdzono czy ekspresja genów i białek PROK1 i jej receptorów może być regulowana przez czynniki pochodzenia zarodkowego. U świni głównym sygnałem zarodkowym jest estradiol-17β (E2). W badaniach przeprowadzonych

w ramach prezentowanej pracy doktorskiej wykorzystano model *in vitro*, w którym hodowano tkanki CL oraz model *in vivo*, w którym naśladowano wydzielanie sygnałów przez zarodki.
W warunkach *in vitro* oraz *in vivo* wykazano, że ekspresja genu i/lub białka PROK1 i jej receptora PROKR1 była stymulowana poprzez E2 oraz przez prostaglandynę E2 (PGE2), wydzielaną przez zarodki oraz endometrium podczas wczesnej ciąży. Następnie zbadano czy prostaglandyna F2α (PGF2α), która inicjuje proces luteolizy, może regulować ekspresję PROK1 i jej receptorów w CL. Uzyskane wyniki pozwoliły stwierdzić, że PGF2α zwiększyła ekspresję genu *PROK1* w 12. dniu cyklu rujowego. Następnie zbadano wpływ PROK1 na procesy związane z funkcją CL. Wykorzystując model *in vitro*, wykazano, że PROK1 reguluje syntezę i wydzielanie progesteronu przez CL. Ponadto, stymuluje ona proces tworzenia się naczyń krwionośnych w CL oraz zwiększa żywotność oraz redukuje apoptozę komórek lutealnych.

Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że PROK1 jest istotnym regulatorem funkcji ciałka żółtego. Jej produkcja wzrasta w CL w trakcie procesu matczynego rozpoznania ciąży, podczas którego dochodzi do zahamowania luteolizy, a ekspresja PROK1 i PROKR1 regulowana jest przez sygnał zarodkowy (E2) oraz PGE2. Prokinetycyna 1 jest również ważnym czynnikiem zaangażowanym w kontrolowanie funkcji wydzielniczej ciałka żółtego poprzez wspieranie procesu steroidogenezy i tworzenia się naczyń krwionośnych, a także hamując apoptozę komórek lutealnych i zwiększając żywotność komórek w CL. Procesy te są kluczowe dla rozwoju ciąży u świni domowej. Wyniki przeprowadzonych badań pogłębiają wiedzę z zakresu biologii rozrodu i w przyszłości mogą przyczynić się do opracowania nowych technik ograniczających śmiertelności zarodków w newralgicznym okresie ciąży, jakim jest matczyne rozpoznanie ciąży, zagnieżdżenie zarodków oraz rozwój łożyska.