

Proces ustanowienie ciąży wymaga współdziałania przygotowanej do przyjęcia zarodka błony śluzowej macicy oraz odpowiedniego stadium rozwoju zarodka zdolnego do implantacji. U ssaków, w tym również u świń, zarodki zagnieżdżają się w błonie śluzowej macicy tylko podczas ograniczonego czasowo okna receptywności (tzw. okna implantacyjnego). Celem osiągnięcia właściwej receptywności, a co za tym idzie przylegania i implantacji zarodka, błona śluzowa macicy przechodzi zmiany w odpowiedzi na fizjologiczne bodźce wyzwalane pod wpływem hormonów jajnikowych. Hormony jajnikowe indukują w błonie śluzowej macicy czynniki regulujące rozwój i implantację zarodka. Natomiast rozwijające się zarodki wydzielają cząsteczki, które wpływają na poprawę ich przeżycia w macicy. Do czynników zaangażowanych w interakcje maczyno-zarodkowe, zaliczamy prostaglandyny, czynniki wzrostu, cytokiny i ich receptory oraz estradiol. Czynniki hamujące białaczkę (LIF), interleukiny (IL)-6 i IL-1 $\beta$ , obecne są w mikrośrodkowisku macicy we wczesnej ciąży. Zdolność zarodków do modyfikowania środowiska macicy, tak aby stwarzało korzystne warunki, odbywa się poprzez aktywację czynników transkrypcyjnych w zarodku i błonie śluzowej macicy. Wiele cytokin produkowanych w zarodku i błonie śluzowej macicy, stymuluje ściśle kontrolowaną reakcję immunologiczną w macicy. Jednakże, ich działanie nie jest ograniczone jedynie do układu odpornościowego, ale mogą regulować różnicowanie się, proliferację i przeżycie komórek zarodka i macicy.

Wiele badań wykazało, że LIF – cytokina produkowana przez macicę, jest zasadniczym regulatorem implantacji u myszy. Wiadomo również, że LIF i IL-6 łącząc się ze swoimi receptorami na powierzchni komórek lub glikoproteiną 130, aktywują transkrypcję czynnika STAT3 (ang. *Signal Transducers and Activators of Transcription* – przekaźniki sygnału i aktywatory transkrypcji) w komórkach błony śluzowej macicy. Wykazano, że czynniki LIF i IL-6, ulegają podwyższonej ekspresji w błonie śluzowej macicy świń we wczesnej ciąży. Dodatkowo, u świni wskazano na STAT3 jako głównego regulatora białek ulegających ekspresji w cyklu i ciąży. Co więcej, stwierdzono że STAT1 indukowany jest przez E2 i IFN w błonie śluzowej macicy świni. Jednakże nie wiadomo czy wyżej wymienione cytokiny aktywują geny/białka STAT w błonie śluzowej macicy świni, jak również nieznanym jest dobrze szczegółowy mechanizm, poprzez który aktywowany STAT indukuje zmiany odpowiedzialne za rozwój macicy i zarodka oraz implantację.

Celem naszych badań jest zrozumienie mechanizmów aktywacji białek STAT w rozwijającym się zarodku i błonie śluzowej macicy świni, indukowanych przez cytokiny/hormony. Chcielibyśmy zbadać ekspresję i aktywację białek STAT (STAT1, STAT2 i STAT3) w błonie śluzowej macicy i w zarodku. Białka STAT to regulatory transkrypcji aktywowane przez szereg cytokin, czynników wzrostu i hormonów. Ich aktywacja jest niezbędna dla przebiegu procesów takich jak: różnicowanie się i proliferacja komórek, przebudowa macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM; ang. *extracellular matrix remodeling*) oraz adhezja komórek. Wszystkie te procesy zaangażowane są w przebudowę błony śluzowej macicy, konieczną do rozwoju jej receptywności a następnie implantacji zarodka. Ponadto planowane jest zbadanie mechanizmów poprzez które STAT pośredniczą w działaniu rozmaitych cytokin, czynników wzrostu i estradiolu (E2) w śluzówce macicy i/lub zarodkach. Również zbadana zostanie rola STAT w procesie zagnieżdżania zarodka.

W naszych badaniach wykorzystane zostaną techniki biologii molekularnej (ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym - qPCR, western blot, badania immunohistochemiczne, wyciszanie genów oraz analiza immunoprecypitacji chromatyny). Technika qPCR pozwoli ocenić, czy geny STAT ulegają ekspresji w błonie śluzowej macicy i czy ciąża powoduje wzrost tej ekspresji oraz określi ekspresję innych genów, odpowiedzialnych za przebudowę macicy, proliferację komórek, a także molekuł kontrolujących adhezję nabłonka, ułatwiającą przyleganie zarodka. Metoda western blot zostanie wykorzystana do oceny aktywacji białek STAT, podczas gdy badania immunohistochemiczne umożliwią wskazanie lokalizacji ekspresji STAT oraz ich białek efektorowych w poszczególnych częściach błony śluzowej macicy. Wyciszanie genów pozwoli nam zahamować ekspresję białek STAT w komórkach nabłonkowych, aby ocenić czy pełnią one funkcjonalną rolę w adhezji trofoblastu do nabłonka błony śluzowej macicy. Wyniki naszych badań dostarczą informacji dotyczących ekspresji genów/białek, uczestniczących w mechanizmach odpowiedzialnych za przyleganie zarodków i przebudowę błony śluzowej macicy. Poza tym, przebudowa błony śluzowej macicy jest procesem powszechnie występującym u ssaków, dlatego też uzyskane wyniki mogą być wykorzystane w przypadku innych zwierząt gospodarskich a także człowieka, dla którego modele powstałe w oparciu o gryzonia nie są wystarczające.