

Streszczenie

Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej (MMPs) to grupa zależnych od jonów Zn^{2+} i Ca^{2+} enzymów proteolitycznych. Enzymy te degradują białka budujące macierz zewnątrzkomórkową, a także są zaangażowane w aktywację oraz uwalnianie cząsteczek sygnałowych. W warunkach fizjologicznych ich aktywność regulowana jest przez specyficzne tkankowe inhibitory MMPs (TIMPs). Liczne doniesienia sugerują udział metaloproteinaz w przebudowie i funkcjonowaniu jajnika ssaków natomiast informacje o zaangażowaniu metaloproteinaz w remodeling jajnika ptaków są nieliczne i fragmentaryczne. Przedstawione w niniejszej pracy badania są próbą znalezienia odpowiedzi na pytanie, czy wybrane elementy systemu MMP są zaangażowane w regresję jajnika ptaków podczas przerwy w aktywności rozrodczej oraz czy estrogeny i gonadotropiny regulują ekspresję i/lub aktywność MMPs. W celu odpowiedzi na to pytanie postanowiono określić: 1) ekspresję, lokalizację i aktywność wybranych metaloproteinaz (MMP-2, MMP-9, MMP-10, MMP-13) i ich tkankowych inhibitorów (TIMP-2, TIMP-3) w pęcherzykach jajnikowych kury (*Gallus gallus domesticus*) podczas przerwy w nieśności wywołanej głodzeniem, 2) udział estrogenów w regulacji ekspresji i aktywności wybranych MMPs w tkankach jajnika kury, 3) zaangażowanie gonadotropin w regulację ekspresji i aktywności wybranych przedstawicieli systemu MMPs (MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-10, MMP-13) w jajniku kury.

Wykazano ekspresję mRNA wybranych MMPs i TIMPs jako i białka MMP-2 i MMP-9 oraz aktywność MMP-2 i MMP-9 we wszystkich badanych tkankach jajnika, tj. w pęcherzykach białych (WF), żółtawych (YF) i małych żółtych (SYF) oraz w warstwie ziarnistej i osłonce największych żółtych pęcherzyków przedowulacyjnych (F3-F1) u kur grup kontrolnych, poddanych wymuszonej przerwie w nieśności, otrzymujących iniekcje tamoksifenu (TMX; bloker receptorów estrogenowych) lub iniekcje gonadotropiny żrebnych klaczy (eCG). Generalnie u kur głodzonych, atrezji pęcherzyków przedowulacyjnych towarzyszył wyraźny spadek ekspresji mRNA badanych MMPs i TIMP-3 oraz ilości białka i aktywności MMP-2 i MMP-9 w porównaniu do pęcherzyków zdrowych. Jednocześnie w pęcherzykach tych obserwowano zwiększenie poziomu transkryptu TIMP-2. Odnotowano także zmniejszenie ilości białka MMP-2 i MMP-9 w WF, a zwiększenie całkowitej aktywności MMP-2 i MMP-9 w YF. W ścianie pęcherzyków żółtych przedowulacyjnych zdrowych i atretycznych obserwowano immunopozytywną reakcję dla MMP-2 i MMP-9 z wyraźnymi, specyficznymi dla komórek i tkanek wzorcami lokalizacji. TMX spowodował: (1) zwiększenie ekspresji mRNA MMP-2 i MMP-10 w osłonce pęcherzyka F1, MMP-9,

MMP-10 i TIMP-3 w YF, MMP-13 w pęcherzykach F3-F2 i osłonce pęcherzyka F1 oraz TIMP-3 w pęcherzyku F3; (2) zmniejszenie ilości transkryptu MMP-9 i MMP-10 w większość tkanek oraz TIMP-2 w osłonce i warstwie ziarnistej pęcherzyka F3 i warstwie ziarnistej pęcherzyków F2-F1; (3) zmniejszenie względnej ilości białka MMP-9 w większości badanych tkanek jajnika; (4) spadek całkowitej aktywności MMP-2 w WF i SYF oraz MMP-9 w osłonce pęcherzyków F3-F1; (5) wzrost całkowitej aktywności MMP-2 w osłonce pęcherzyka F3 i warstwie ziarnistej pęcherzyka F2 oraz MMP-9 w warstwie ziarnistej pęcherzyka F3. Ponadto, po iniekcjach eCG stwierdzono zależną od stopnia rozwoju pęcherzyka, tkanki oraz typu MMPs lub TIMPs ekspresję mRNA i/lub białka. eCG spowodowała zwiększenie ekspresji mRNA MMP-2 w YF, MMP-7 w SYF i osłonce pęcherzyka F1, MMP-10 w WF i YF, MMP-13 w YF i warstwie ziarnistej pęcherzyków F2-F1, TIMP-2 w warstwie ziarnistej pęcherzyka F1 oraz TIMP-3 w większości badanych tkanek. Jednocześnie po iniekcjach eCG obserwowano zmniejszenie ekspresji MMP-2 w osłonce pęcherzyków F3-F1 oraz warstwie ziarnistej pęcherzyka F3 i F1, MMP-9 w większości badanych tkanek jajnika, MMP-10 w osłonce pęcherzyka F3 i F2 oraz TIMP-2 w WF, SYF i osłonce pęcherzyka F3. eCG spowodowała zwiększenie ilości białka MMP-2 w warstwie ziarnistej pęcherzyka F1 i MMP-9 w osłonce pęcherzyka F2, a zmniejszenie poziomu ekspresji białka MMP-9 w YF. Oznaczona po iniekcjach eCG całkowita aktywność MMP-2 była zwiększona w warstwie ziarnistej pęcherzyka F1 a zmniejszona w YF, osłonce pęcherzyka F2 i F1 oraz warstwie ziarnistej pęcherzyka F2. W przypadku MMP-9 zanotowano mniejszą jej aktywność w WF i osłonce pęcherzyka F1.

Wykazana ekspresja i aktywność wybranych elementów systemu MMP we wszystkich badanych tkankach jajnika wskazuje, że jajnik ptaków jest miejscem syntezy i działania wybranych MMPs i TIMPs. Stwierdzone zmniejszenie ekspresji i aktywności wybranych MMPs w kompartmentach jajnika w czasie jego regresji, sugerują, że enzymy te mogą nie być zaangażowane w regulację zaawansowanego stadium atrezji żółtych pęcherzyków jajnikowych. Zależne od tkanki i stadium rozwoju pęcherzyka zmiany w ekspresji mRNA MMP-2, MMP-9, MMP-10, MMP-13 oraz TIMP-2 i TIMP-3 jak również w aktywności MMP-2 i MMP-9 po iniekcjach TMX, wskazują na udział estrogenów w regulacji transkrypcji, translacji i/lub aktywności tych elementów systemu MMPs. Stwierdzone zmiany w ekspresji wybranych elementów systemu MMPs jak i aktywności żelatynaz (MMP-2 i MMP-9) w pęcherzykach jajnikowych kury po iniekcjach eCG sugerują, że gonadotropiny, głównie FSH, regulują ekspresję i/lub aktywność tych enzymów.