

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie

Instytut Medycyny Weterynaryjnej

lek. wet. Tomasz Jasiński

Rola szlaku NF- κ B zależnego w patogenezie
wybranych chorób błony śluzowej macicy
klaczy

The role of the NF- κ B dependent pathway in the pathogenesis
of selected mare endometrial diseases

Rozprawa doktorska

Doctoral thesis

Praca wykonana pod kierunkiem:

Dr hab. Małgorzaty Domino

Promotor pomocniczy: Dr hab. Bartosz Pawliński

Katedra Chorób Dużych Zwierząt i Klinika

Instytut Medycyny Weterynaryjnej

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Warszawa, 2022

Streszczenie

Rola szlaku NF- κ B zależnego w patogenezie wybranych chorób błony śluzowej macicy klaczy

Zapalenie błony śluzowej macicy i endometrioza są jednym z ważnych czynników prowadzących do upośledzenia zdolności rozrodczych klaczy. W zapaleniu błony śluzowej macicy zarówno naciek zapalny, jak i wytwarzanie cytokin prozapalnych są regulowane przez mechanizmy komórkowe i genowe, w tym szlak zależny od czynnika jądrowego- κ B (NF- κ B). W endometriozie powstawanie zwłóknienia okołogruczołowego jest związane z przewlekłym zapaleniem oraz odpowiedzią na liczne formy bodźców prozapalnych. Niniejsze badanie miało na celu ustalenie, czy ekspresja genów na poziomie mRNA dla białka chemotaktycznego monocytów-1 (*MCP-1*), interleukiny-6 (*IL-6*) i syntaz hialuronowych (*HAS*) może dzielić kanoniczne (*RelA/NF- κ B1*) i niekanoniczne (*NF- κ B2*) szlaki aktywacji zależne od NF- κ B i zmieniać się zależnie od kategorii i typów endometriozy oraz stanu zapalnego błony śluzowej. W badaniach uwzględniono fazy cyklu jajnikowego oraz ekspresję genów na poziomie mRNA dla receptorów estrogenowych (*ESR1*, *ESR2*) i progesteronowych (*PGR*). Próbkę błony śluzowej macicy, pobrane w fazie pęcherzykowej (FLP) i lutealnej (MLP), zostały sklasyfikowane histologicznie zgodnie z klasyfikacjami Kenney'a i Doiga (II, IIa, IIb, III) oraz Hoffmanna. Transkrypcję genów docelowych oceniano za pomocą qPCR. Transkrypcja *RelA* była wyższa w III, natomiast *NF- κ B1* i *NF- κ B2* także w IIa, a w IIb tylko w FLP. Transkrypcja *RelA* i *NF- κ B1* była wyższa w aktywnej-niszczącej endometriozie tylko w FLP. Transkrypcja genów podjednostek NF- κ B nie różniła się ani w zależności od intensywności, ani od rodzaju nacieku zapalnego. Stwierdzono różnice w transkrypcji *ESR1*, *ESR2* i *PGR* między FLP i MLP w poszczególnych kategoriach i typach endometriozy. Szlaki NF- κ B, kanoniczny i niekanoniczny mogą być zaangażowane w progresję endometriozy, zwłaszcza niszczącej. Jednak badane szlaki zapalenia błony śluzowej macicy nie są zależne od NF- κ B. Ponadto najważniejsze zmiany w ekspresji genów docelowych zaobserwowano tylko w FLP, co może sugerować hormonozależną aktywację szlaków włóknienia zależnych od NF- κ B i zostało potwierdzone przez wykazane rozregulowanie transkrypcji receptorów steroidowych w błonie śluzowej macicy. Na podstawie uzyskanych wyników można zasugerować różne szlaki sygnałowe dla rozwoju i progresji zapalenia błony śluzowej macicy i endometriozy u koni.

Słowa kluczowe: błona śluzowa macicy, zapalenie, endometrioza, włóknienie, rozród, koń

Summary

The role of the NF- κ B dependent pathway in the pathogenesis of selected mare endometrial diseases

Endometritis and endometriosis are important issues decreasing mares' fertility. In endometritis, both inflammatory infiltration and proinflammatory molecule production are regulated by various cellular and gene regulatory mechanisms, including the nuclear factor- κ B (NF- κ B-dependent pathway). In endometriosis, the formation of periglandular fibrosis seems to be linked to chronic endometritis and in a response to numerous forms of inflammatory stimuli. This study aimed to determine whether gene expression on mRNA level of monocyte chemoattractant protein-1 (*MCP-1*), interleukin-6 (*IL-6*), and hyaluronan synthases (*HASs*), may share the canonical (*RelA/NF- κ B1*) and noncanonical (*NF- κ B2*) NF- κ B dependent activation pathways, and would change in subsequent categories and types of endometriosis as well as the inflammatory infiltration. The estrous cycle phases and the gene expression on mRNA levels of estrogen (*ESR1*, *ESR2*) and progesterone (*PGR*) receptors were considered. Endometrial samples, collected in the follicular phase (FLP) and mid-luteal phase (MLP), were classified histologically following both Kenney's and Doig's (II, Ila, I Ib, III) and Hoffmann's classifications. The transcription of target genes was evaluated using qPCR. Transcription of *RelA* was higher in III, whereas *NF- κ B1* and *NF- κ B2* were also in Ila, and Ila and I Ib, only in FLP. Transcription of *RelA* and *NF- κ B1* was higher in an active destructive group only in FLP. Transcription of NF- κ B subunits genes did not differ with either inflammatory intensity or type of inflammatory infiltration. Differences in the transcription of *ESR1*, *ESR2*, and *PGR* were noted between FLP and MLP in the specific categories and types of endometriosis. NF- κ B may be involved in the progression of equine endometriosis, especially destructive one, on both canonical and noncanonical pathways. Contrary, the studied pathway of the equine inflamed endometrium does not seem to be regulated by the NF- κ B pathway. Moreover, the most important changes in target genes expression were observed only in FLP, which may suggest a hormone-regulated activation of the NF- κ B-dependent fibrosis pathway, which was confirmed by the dysregulation of the transcription of endometrial steroid receptors with the degree of endometriosis. Based on the current results, separate signaling pathways for the development and progression of equine endometritis and endometriosis may also be suggested.

Key words: endometrium, endometritis, endometriosis, fibrosis, reproduction, horse