

Mechanizm dojrzewania płciowego i procesy warunkujące jego podłoże genetyczne u człowieka nadal pozostają nie do końca zbadane. Wobec postępu technologicznego i nowych możliwości wykrywania zmian w genomie człowieka planuje się szeroką i kompleksową analizę genetyczną w grupie pacjentów z izolowanym hipogonadyzmem hipogonadotropowym (IHH), celem poszukiwania nowych genów, których defekty leżą u podłoża IHH. Podłoże genetyczne ponad 50% przypadków IHH jest wciąż nieznane. Nadrzędnym celem przedłożonego projektu jest identyfikacja wciąż nieodkrytych czynników genetycznych leżących u podstaw organogenezy podwzgórza, przysadki mózgowej i opuszki węchowej, a tym samym odpowiadającym za rozwój izolowanego hipogonadyzmu centralnego. Planowane jest również oszacowanie częstości występowania mutacji przyczynowych w regionach kodujących genów uczestniczących w patogenezie IHH w badanej populacji oraz określenie tzw. mutacyjnych miejsc typu „hot-spot” czyli potencjalnych defektów charakteryzujących się zwiększoną częstością w populacji.

Metody molekularne jakie zamierzamy zastosować są uznawane dziś za najbardziej nowoczesne i zaawansowane narzędzia do badania genomu ludzkiego oraz poszukiwania nowych genów związanych z patologią określonych chorób. Taka analiza nie była dotychczas wykonywana u pacjentów z IHH w populacji polskiej.

W pierwszym etapie badań poszukiwane będą mutacje w znanych genach IHH, przy użyciu platformy sekwencyjnej nowej generacji (NGS) o średniej przepustowości, tzw. Benchtop Sequencer, będącej własnością Pracowni Endokrynologii Molekularnej przy Klinice Endokrynologii, Przemiany Materii i Chorób Wewnętrznych w Poznaniu i dedykowanego panelu znanych genów u pacjentów z IHH. Nowatorska technologia sekwencjonowania daje możliwość wykrycia rzadkich wariantów potencjalnie patogennych, całkowicie pomijanych w badaniach asocjacyjnych oraz umożliwia badanie defektów genetycznych związanych ze zmianą architektury białka. Dotyczy to szczególnie małych delecji/insercji (tzw. INDELS), związanych z przesunięciem ramki odczytu i istotną zmianą kompozycji białka.

Analiza otrzymanych sekwencji zostanie wykonana za pomocą dedykowanych programów (np. IONReporter) oraz ogólnodostępnych narzędzi bioinformatycznych służących analizie porównawczej (Ensembl, NCBI). Pozostałe analizy genetyczne, w zależności od zastosowanej metody będą wykorzystywać oprogramowanie dedykowane lub inne powszechnie wykorzystywane i opublikowane w badaniach tego rodzaju. Analiza *in silico* patogenności wykrytych wariantów zostanie wykonana za pomocą programów PolyPHEN, oraz Sift, (sekwencje kodujące), SpliceSite (sekwencje intronowe) lub innych opublikowanych narzędzi, zaprojektowanych do tego celu. Sekwencje referencyjne dla DNA, RNA oraz białek, w celu porównania, uzyskiwano z genetycznych, ogólnodostępnych baz danych np. GenBank, HGMD lub zbiorów genomowych.

Opisywany projekt ma na celu określenie znaczenia udziału nowoodkrytych i znanych wcześniej czynników genetycznych w etiopatogenezie IHH w badanej populacji. Mamy nadzieję, że zastosowanie najnowszych technologii i narzędzi do badania genomu, takich jak sekwencjonowanie nowej generacji (NGS), pozwoli znacząco rozszerzyć naszą wiedzę dotyczącą neuroendokrynologii i genetycznie uwarunkowanego podłoża IHH oraz rzuci nowe światło na wrodzone anomalie związane z osią podwzgórzowo-przysadkowo-gonadalną.