

Ostatnie dane epidemiologiczne wskazują na wzrost liczby nowotworów gonady męskiej w obrębie komórek plemnikotwórczych ale także komórek steroidogennych tk. interstycjalnej (komórek Leydiga; KL). Leydigoma diagnozowana jest u dorosłych mężczyzn oraz u dzieci. U podłoża chorób jądra leżą m.in. czynniki endokrynologiczne i genetyczne, jak również działanie czynników środowiskowych (ekspozycja na substancje chemiczne). Precyzyjne wskazanie przyczyn męskiej niepłodności bywa często trudne ze względu na wciąż niepełną wiedzę o hormonalnej i molekularnej kontroli czynności gonady.

Nadrzędną funkcją KL jest produkcja hormonów steroidowych: androgenów i estrogenów. W KL receptory hormonów płciowych wykazują wysoką ekspresję, co potwierdza kluczową rolę steroidów płciowych w kontroli procesu steroidogenezy i spermatogenezy. Balans androgenów do estrogenów jest istotny dla prawidłowego rozwoju i funkcji rozrodczych samca. Nokaut genów receptorów lub enzymów steroidowych bądź zahamowanie sygnalizacji przez steroidy płciowe u gryzoni laboratoryjnych skutkuje powstaniem niepłodności i/lub licznych wad morfo-funkcjonalnych w ukł. rozrodczym m.in. hipertrofii (powiększenia rozmiarów) i hiperplazji (wzrost liczby) KL. Po urodzeniu samca KL są nieaktywne mitotycznie. Jednak w wielu zaburzeniach np. azoospermii czy zespole Klinefeltera opisano wznowienie proliferacji KL, co wiąże się m.in. z zakłóceniem równowagi endogennych steroidów i innych czynników regulacyjnych. W KL zwierząt modelowych traktowanych środowiskowymi związkami hormonopodobnymi wykazano hiperplazję i hipertrofię. Związki te mogą działać poprzez receptory hormonów steroidowych (działanie estrogenne, antyandrogenne), jak i poprzez aktywację błonowego receptora estrogenowego związanego z białkiem G (ang. *G-coupled Estrogen Receptor*) czy receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów (ang. *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor*; PPAR α , β i γ). GPER i PPAR wiążą także hormony płciowe. Nie wiadomo czy i jakie mechanizmy hormonalne indukują hiperplazję KL i jej przekształcenie w nowotwór. W komórkach nowotworowych zaburzona komunikacja międzykomórkowa prowadzi do zakłóceń wzrostu, podziałów komórkowych ale także zmienia charakterystykę zachowania i funkcji komórek m.in. gospodarkę lipidową.

Głównym założeniem projektu będzie ustalenie roli GPER i PPAR w fizjologii i nowotworzeniu w KL, w oparciu o najnowsze dane wskazujące na nakładanie się sygnalizacji tych receptorów w kontroli procesów komórkowych (prolifерacja, migracja, angiogeneza) i metabolizm lipidów. Zbadane będą geny regulowane przez GPER i PPAR oraz interakcje tych receptorów z endogennymi steroidami, środowiskowymi związkami hormonopodobnymi i czynnikami wzrostu w hiperplastycznych i nowotworowych KL. Kompleksowe badania zostaną przeprowadzone w systemach *in vitro* i *ex vivo* (hodowla organotypowa tk. interstycjalnej) w (i) mysich nowotworowych KL (linii MA-10), (ii) KL/tk. interstycjalnej myszy transgenicznych AROM+ (z nadekspresją syntazy estrogenowej) oraz (iii) ludzkiej Leydigiomie. Takie podejście badawcze pozwoli na ustalenie uniwersalnych mechanizmów sygnalizacji GPER i PPAR w KL. Badania będą wykonywane po wcześniejszym zablokowaniu/aktywacji w/w receptorów (techniki wyciszania genów i farmakologicznie) w mysich KL *in vitro* a następnie wyniki będą weryfikowane u myszy AROM+ i tk. ludzkiej Leydigiomie. Dalsza weryfikacja nastąpi w mysich KL/tk.interstycjalnej po podaniu steroidów płciowych, mieszaniny środowiskowych związków hormonalnie czynnych (antyandrogeny i ksenoestrogeny), wybranych czynników wzrostu, po zastosowaniu ograniczonego dostępu tlenu lub po podaniu nadmiaru jonów chlorkowych w celu wywołania hiperplazji KL. Zostaną także zbadane procesy migracji i adhezji komórek oraz angiogenezy tkanki. Analizy mRNA, białek i steroidów będą prowadzone z użyciem qRT-PCR, mikromacierzy, t. immunohistochemicznych, immunoenzymatycznych i radioimmunologicznych. Badane będą m.in. kinazy MAP/ERK, cz. transkrypcyjny DAX-1, cyklooksygenaza 2, metaloproteinazy, insulinopodobny czynnik 3, czynniki steroidogenne, których rola w kontroli funkcji KL nie jest poznana do końca.

Wyjaśnienie mechanizmów sygnalizacji GPER i PPAR w fizjologii i patologii KL może stanowić punkt wyjścia do identyfikacji molekularnych przyczyn hipertrofii/hiperplazji KL oraz Leydigiomie. Ponadto, uzyskane wyniki będą istotnym wkładem w wiedzę z zakresu endokrynologii ukł. rozrodczego i andrologii. Podjęte badania wymagają głębokiej wiedzy z zakresu andrologii doświadczalnej, endokrynologii biochemicznej, biologii komórki, genetyki molekularnej i t. obrazowania. Wieloaspektowe spojrzenie pozwoli na wypracowania nowatorskich rozwiązań i odkrycie dotąd nieopisanych zjawisk biologicznych i obszarów badawczych.