

Popularnonaukowe streszczenie projektu

Zapłodnienie i najwcześniejsze etapy rozwoju zarodka/ów odbywają się w jajowodzie. Jednakże warunki przebiegu tych początkowych okresów ciąży nie są w pełni poznane. Pomimo rozwijającej się medycyny prenatalnej oraz technik wczesnego diagnozowania nieprawidłowości przebiegu ciąży, tylko 30% kobiet, z sukcesem donosi ciążę. Zdecydowana większość zarodków obumiera, w szczególności, podczas pierwszych etapów jej trwania. Podobnie, w przypadku zwierząt gospodarskich np. świni, umieralność zarodków wciąż jest wysoka i oscyluje w granicach 30-40%. Również postęp technik wspomaganego rozrodu i ich skuteczność pozostawiają wiele do życzenia. Okazuje się, że nawet 90% blastocyst powstałych metodą zapłodnienia *in vitro* nie jest w stanie prawidłowo implantować się w śluzówce macicy kobiety. Podobnie, w przypadku bydła, aż 43% zarodków krów, powstałych w wyniku zapłodnienia *in vitro*, obumiera zanim zagnieżdży się w macicy. U świni natomiast, skuteczność zapłodnienia pozaustrojowego wynosi nawet 100%, jednak do 92% oocytów ulega zapłodnieniu większą liczbą plemników (polispermia), zatem, tak powstałe zarodki szybko obumierają. Stało się więc jasne, że należy w pełni poznać i zrozumieć warunki w jakich dojrzewają gamety, ulegają zapłodnieniu, a następnie rozwijają się w nowopowstałe zarodki, pozostając w stałym kontakcie z organizmem samicy – przyszłej matki. Kontakt taki (komórka-komórka) ma miejsce w jajowodzie samicy.

Najbardziej optymalne warunki dla końcowego rozwoju gamet i powstawania zarodków występują we wnętrzu jajowodu. Ten morfologicznie i ultrastrukturalnie złożony narząd nie jest, jak do niedawna sądzono, prostym połączeniem między jajnikiem a macicą. Wręcz przeciwnie, to miejsce o wielce swoistym i dynamicznie zmieniającym się mikrośrodowisku. Na ten dynamizm wpływa różnorodność czynników regulacyjnych: endokrynych i lokalnie wytwarzanych, immunologicznych, nerwowych oraz wspomnianych kontaktów komórka-komórka między nabłonkiem jajowodu a oocytami, plemnikami lub zarodkami. Zaburzenia funkcjonowania któregokolwiek z tych czynników skutkują zakłóceniami w przebiegu wczesnej ciąży i w ostateczności obumieraniem zarodków. Dodatkowo, różne części jajowodu pełnią odmienne funkcje. W połączeniu maciczno-cieśniowym oraz w cieśni odbywa się selekcja plemników, ich hiperaktywacja, jest to też rezerwar tych gamet. W połączeniu bańkowo-cieśniowym dochodzi do rozpoznania między gametami i zapłodnienia, powstaje tu zygota, rozpoczyna się jej pierwszy podział mitotyczny, a następnie kolejne, w trakcie transportu zarodka poprzez cieśń w kierunku macicy. Bańka natomiast, w pierwszej kolejności, to miejsce końcowego dojrzewania oocytów po owulacji i ich transportu do miejsca zapłodnienia.

Biorąc pod uwagę złożoność procesów zachodzących w jajowodzie, celem niniejszego projektu jest przeprowadzenie globalnej analizy ekspresji genów w tym narządzie, na modelu świni domowej. Planowane jest wykorzystanie mikromacierzy transkryptomicznej, czyli techniki pozwalającej na określenie ekspresji wielu tysięcy genów jednocześnie. Planowane jest również porównanie takiej ekspresji w dwóch głównych odcinkach jajowodu, to jest bańce i cieśni, między samicami ciężarnymi i nie ciężarnymi. Ponadto, możliwe będzie poznanie jednego z mechanizmów, który może regulować ekspresję tych genów – metylacji DNA. Proces metylacji DNA polega na przyłączeniu grupy metylowej do cytozyny – jednej z czterech zasad azotowych łańcucha DNA. W wyniku tego przyłączenia ekspresja genu ulega wyciszeniu. Analiza ekspresji genów z jednoczesną możliwością wykrycia sekwencji zmetylowanych w genach (metylacyjna analiza ekspresji genów w czasie rzeczywistym), pozwoli odpowiedzieć na pytanie, czy metylacja DNA występuje również w komórkach nabłonkowych bańki i cieśni jajowodów.

W niniejszym badaniu, jajowody od samic ciężarnych będą pobierane, po uboju samic, w 2-3 dniu ciąży. W jajowodzie występują wtedy zarodki liczące dwie/cztery komórki, są jeszcze obecne plemniki oraz mogą być niezapłodnione oocyty. W przypadku samic nie ciężarnych będą to jajowody z 2-3 dnia cyklu rujowego, gdy w jajowodzie są tylko niezapłodnione oocyty.

Uzyskane wyniki wzbogacą wiedzę w odniesieniu do słabo poznanej regulacji najwcześniejszych etapów ciąży. Pozwolą, na wyznaczenie genów, które mogą być markerami wczesnej ciąży oraz których produkty białkowe regulują procesami zachodzącymi podczas ciąży jajowodowej, w porównaniu do jej braku. Będzie także możliwe stwierdzenie, czy metylacja DNA reguluje ekspresję genów komórek nabłonkowych jajowodu, w czasie gdy kontaktują się one z oocytami lub zarodkami. Uzyskane wyniki będą mogły być uwzględnione w optymalizacji składu medium w procedurach zapłodnienia *in vitro* (IVF) i hodowli zarówno oocytów jak i zarodków (IVC). Jest to szczególnie ważne w przypadku samic, gdyż częste niepowodzenia IVF i IVC u tego gatunku, są związane z polispermią.