

STRESZCZENIE POPULARNO – NAUKOWE

Rozród jest niewątpliwie jedną z najbardziej rozwiniętych gałęzi medycyny weterynaryjnej, również tej dotyczącej koni. Wiedza dotycząca rozrodu koni jest duża, niemniej pomimo znaczącego rozwoju wskaźniki rozrodu koni się nie zmieniły i nadal są niższe w porównaniu do innych gatunków zwierząt gospodarskich. Jednym z największych wyzwań i jednocześnie problemów związanych z rozrodem koni jest utrata wczesnej ciąży u klaczy, za co uważa się utratę ciąży do ok. 40 dnia. W tym okresie ma miejsce tworzenie łożyska u klaczy. Niemniej, czynniki immunologiczne, takie jak specyficzne komórki biorące udział w tworzeniu łożyska u klaczy oraz rozwinięciu się macicznej tolerancji nie są do tej pory poznane u tego gatunku.

Dlatego też celem niniejszego projektu jest zbadanie czynników immunologicznych wpływających na tworzenie się łożyska u klaczy. W szczególności chcemy scharakteryzować zarówno czynniki należące do nieswoistej jak i swoistej odpowiedzi immunologicznej, które mogą odgrywać kluczową rolę podczas tworzenia się łożyska oraz tolerancji macicznej na rozwijający się płód.

Zakładamy, że komórki NK (natural killer), które są komponentem nieswoistej odpowiedzi immunologicznej mogą być zaangażowane w proces tworzenia połączenia pomiędzy omocznikokosmówką (część płodowa łożyska) a endometrium macicy (część maciczna łożyska) podczas tworzenia się łożyska. Uważamy, że transkryptom tych komórek, a więc geny ulegające w danym momencie ekspresji, będzie się zmieniał w trakcie tego procesu. Sądzymy, że komórki NK razem z limfocytami regulatorowymi T (Treg), które należą do swoistej odpowiedzi immunologicznej będą warunkowały maciczną tolerancję na antygeny ojcowskie płodu w momencie zakończenia tworzenia się łożyska.

Dlatego też szczegółowe cele projektu to:

- 1). Optymalizacja procesu pozyskania zawiesiny pojedynczych komórek endometrium klaczy o jakości odpowiedniej do użycia ich w metodzie sekwencjonowania pojedynczych komórek (scRNAsequencing, scRNAseq), a więc pozwalającej na dokładne scharakteryzowanie wszystkich komórek obecnych w badanej próbce
- 2). Porównanie typów komórek występujących podczas tworzenia się łożyska oraz po zakończeniu tego procesu
- 3). Scharakteryzowanie fenotypu komórek NK biorących udział w procesie tworzenia się łożyska u klaczy
- 4). Scharakteryzowanie fenotypu komórek Treg biorących udział w procesie tworzenia się łożyska u klaczy
- 5). Identyfikacja czynników zarodkowych wpływających na komórki NK oraz Treg podczas tworzenia się łożyska u klaczy

W celu zbadania powyższych założeń pobrane zostaną próbki endometrium i omocznikokosmówki w okresie tworzenia się połączenia łożyskowego (dzień 33-35 ciąży) oraz po utworzeniu łożyska (dzień 42 ciąży). Użycie jednej z najnowocześniejszych technik pozwalających na identyfikację pojedynczych komórek – scRNAseq pozwoli scharakteryzować wszystkie komórki występujące w badanym okresie w endometrium, w tym komórki NK oraz Treg. Ze względu na konieczność ustalenia metodyki izolacji pojedynczych komórek z endometrium klaczy pierwszym etapem będzie optymalizacja tej metody na materiale pochodzącym z rzeźni. Kolejnym etapem będzie pobranie próbek endometrium od ciężarnych klaczy i wykonanie scRNAseq. Następnie czynniki wydzielane przez omocznikokosmówkę podczas tworzenia się łożyska zostaną scharakteryzowane przy pomocy metody RNA sequencing, a więc określenia genów ulegających ekspresji w całej badanej tkance. Wpływ tych czynników zostanie zweryfikowany w badaniach in vitro. Tak zaplanowany projekt pozwoli na dokładną charakterystykę procesów immunologicznych biorących udział w tworzeniu łożyska oraz rozwoju macicznej tolerancji podczas ciąży u klaczy.

Fizjologia wczesnej ciąży u klaczy jest nie tylko wyzwaniem dla naukowców i lekarzy weterynarii. Związane z tym okresem zaburzenia rozrodu powodują znaczne straty ekonomiczne dla hodowców i właścicieli koni. Proponowany projekt ma unikalny charakter, a uzyskane wyniki pozwolą znacząco poszerzyć wiedzę z zakresu immunologii rozrodu koni. Ponadto, ze względu na podobieństwa pomiędzy fizjologią ciąży klaczy może być jednym z gatunków modelowych do badania immunologicznych aspektów ciąży u kobiet. Co więcej, komórki układu immunologicznego koni są poznane w niewielkim stopniu, dlatego też uzyskane w projekcie wyniki porzeszają wiedzę również w tym obszarze i pomogą w tworzeniu nowych metod leczenia np. chorób o podłożu alergicznym u tego gatunku.