

Streszczenie popularnonaukowe

Determinacja i różnicowanie płci ssaków jest złożonym i wieloetapowym procesem, pozostającym pod kontrolą wielu genów. W początkowym okresie rozwoju płodowego, niezależnie od płci chromosomowej (XX lub XY), formują się niezróżnicowane gonady mające zdolność do przekształcania się zarówno w jądro lub jajnik. W zależności od uruchomienia ekspresji genów ścieżki determinacji płci męskiej (np. *SRY*, *SOX9*, *FGF9*, *AMH*) lub żeńskiej (np. *RSP01*, *WNT4*, *CTNNB1*, *FOXL2*) dochodzi do powstania odpowiednio jąder lub jajników, w których wyspecjalizowane typy komórek somatycznych pełnią specyficzne funkcje, w tym związane z produkcją hormonów. Wszelkie nieprawidłowości podczas rozwoju płci prowadzą to powstania wad wrodzonych układu rozrodczego, określanych mianem zaburzeń rozwoju płci (ang. DSD - *disorders of sex development*). DSD są heterogenną grupą wad występującą ze zróżnicowaną częstością u zwierząt towarzyszących (pies, kot) oraz gospodarskich (świnia, bydło, koza, koń), a także u człowieka. Cechą charakterystyczną większości przypadków DSD psów, podobnie jak innych ssaków, jest nieprawidłowy rozwój gonad. Mimo zaawansowanych badań nad podłożem molekularnym DSD ludzi, tylko dla części z nich udało się poznać mutacje sprawcze. Podłoże molekularne DSD zwierząt jest znacznie słabiej poznane. Do tej pory, w przypadku psa, u którego różne formy DSD są stosunkowo często diagnozowane, opisano mutacje tylko kilku genów (np. *SOX9*, *NR5A1*, *HSD17B3*), co było możliwe m.in. dzięki wieloletnim badaniom naszego zespołu. Badania te pozwoliły na zgromadzenie unikatowej kolekcji tkanek prawidłowych i patologicznych gonad psów, które stanowią cenny materiał do poszukiwania mechanizmów powstawania DSD, jak i identyfikacji mutacji sprawczych oraz markerów genetycznych i epigenetycznych DSD psów.

Hipoteza badawcza zakłada, że nieprawidłowa ekspresja genów oraz zaburzenie procesów epigenetycznych w różnych populacjach komórek gonad psów odgrywają istotną rolę w patogenezie DSD. Poznanie profili transkryptomowych pojedynczych komórek oraz epigenetycznych mechanizmów regulacji ekspresji genów pozwoli na znaczące poszerzenie wiedzy o podłożu molekularnym DSD.

Celem projektu jest kompleksowa analiza transkryptomu i epigenomu gonad prawidłowych (jajnik i jądro) i pochodzących od psów DSD posiadających: (1) nieaktywne jądra lub jajniko-jądra osobników z żeńskim kariotypem –XX DSD i brakiem genu *SRY*, (2) dysgenetyczne jajniki osobników z nieprawidłowym zestawem chromosomów płci – samice z monosomią X, (3) niezstąpione jądra bez aktywności spermatogenetycznej - samce obciążone wnetrostwem - XY DSD. Zostaną zastosowane zaawansowane metody badań genomicznych i epigenetycznych, począwszy od całogenomowej analizy transkryptomowej (RNA-Seq), poprzez całogenomową analizę metylacji DNA (EM-Seq), aż do charakterystyki transkryptomu i epigenomu badanego poprzez analizę dostępności chromatyny w pojedynczych komórkach (RNA-Seq+ ATAC-Seq), kończąc na najbardziej zaawansowanych metodach profilowania ekspresji genów w przestrzeni tkankowej tzw. transkryptomiki przestrzennej. Podejście takie umożliwi identyfikację typów komórek, ścieżek sygnalizacyjnych, genów i ich epigenetycznych mechanizmów regulacyjnych, które są istotne dla powstawania nieprawidłowych gonad psów DSD.

Poznanie transkryptomu i epigenomu gonad psów dostarczy cennych informacji z zakresu badań podstawowych na temat powstawania i funkcjonowania gonad ssaków. Pies, który jest ważnym zwierzęciem towarzyszącym jest także cennym organizmem modelowym w badaniach podłoża i terapii dziedzicznych chorób i wad człowieka. Należy podkreślić, że pozyskanie tkanek gonadalnych człowieka jest znacznie trudniejsze, niż w przypadku psa, u którego zabiegi sterylizacji/kastracji są wykonywane rutynowo w gabinetach weterynaryjnych. Ważnym aspektem poznania mechanizmów stojących u podstaw DSD jest także problem znacznie większej predyspozycji gonad osobników DSD (głównie niezstąpionych jąder) do nowotworzenia. Zidentyfikowanie markerów genetycznych i epigenetycznych DSD psa, będzie stanowiło także punkt wyjścia w badaniach nad identyfikacją przyczyn zaburzeń rozwoju płci zwierząt gospodarskich. Występowanie DSD poza negatywnym wpływem na dobrostan zwierząt, ma także duże znaczenie dla hodowli zwierząt i opłacalności produkcji, m.in. poprzez straty ekonomiczne będące efektem bezpłodności/obniżonej płodności takich zwierząt, obniżeniem jakości produktów pochodzenie zwierzęcego (np. obniżona jakość tuszy świń XX DSD), czy kosztami opieki weterynaryjno-zootechnicznej.