

Intergenerational and transgenerational effects of epigenetic factors applied in early developmental stages – insights from in ovo model

Resumé

Modyfikacje epigenetyczne, kształtowane przez czynniki środowiskowe, regulują ekspresję genów i przyczyniają się do zmienności fenotypowej oraz klinicznej. Niektóre z tych zmian są przekazywane międzypokoleniowo, choć ich trwałość może różnić się w zależności od tkanki. Celem niniejszej pracy było zbadanie, w jaki sposób prenatalna ekspozycja na potencjalne modulatory epigenetyczne może wpływać na transkryptom tkanek somatycznych i zarodkowych w kolejnych pokoleniach, oraz ocena stabilności pierwotnych komórek płciowych (PGC) jako modelu eksperymentalnego do badania przekazywania potencjalnych zmian epigenetycznych poprzez porównanie wpływu różnych warunków (zamrażanie–rozmrzanie i hodowla in vitro) na ekspresję markerów specyficznych dla komórek płciowych. W modelu in ovo zastosowano synbiotyki (PoultryStar®) samodzielnie lub w połączeniu z choliną u zarodków F1 w 12. dniu inkubacji i monitorowano efekty w kolejnych pokoleniach (F2–F4). Grupy eksperymentalne obejmowały kontrolę, synbiotyki podane samodzielnie lub z choliną, przy czym zarodki F1 poddawano pojedynczej ekspozycji na czynniki epigenetyczne (w celu oceny efektów między- i transpokoleniowych) lub powtarzanej ekspozycji w każdym pokoleniu (w celu sprawdzenia kumulacyjnych efektów wielokrotnych wstrzyknięć). Migdałki jelitowe, błona śluzowa jelita grubego oraz gonady pobierano od dorosłych samców (21 tygodni), natomiast krew zarodkową pobierano w stadiach Hamburger–Hamilton 14–16. We wszystkich tkankach wykonano sekwencjonowanie RNA, a w gonadach zastosowano RRBS. Ekspozycja in ovo wywołała zarówno efekty międzypokoleniowe (F2), jak i transpokoleniowe (F3 i F4), które były specyficzne dla tkanki. Migdałki jelitowe wykazały silne i trwałe odpowiedzi transgeneracyjne w F3, błona śluzowa jelita grubego wykazała przejściowe efekty międzygeneracyjne w F2, a krew zarodkowa wykazała umiarkowane efekty w F3, które zmniejszyły się w F4. Gonady były szczególnie wrażliwe na połączenie synbiotyku i choliny, wykazując wyraźne zmiany transkryptomowe i epigenetyczne w F2 i F3. Ogólnie, wzbogacone szlaki obejmowały metabolizm, sygnalizację immunologiczną,

proteostazę, reakcje na stres, dynamikę cytoszkieletu oraz wzrost i rozwój komórek. Wyniki te podkreślają dynamiczne wzorce dziedziczenia, wskazując, że efekty epigenetyczne nie są liniowe. Należy zauważyć, że powtarzane ekspozycje nie powodowały konsekwentnego wzmocnienia efektów w kolejnych pokoleniach. Równolegle badano stabilność PGC kur w warunkach krótkoterminowej i długoterminowej kriokonserwacji. Mrożone-rozmrożone PGC zachowały żywotność, kompetencje germinalne oraz stabilność transkryptomu, potwierdzając ich przydatność do biobankowania oraz jako model do badania dziedziczenia epigenetycznego. Podsumowując, niniejsza praca wykazała, że prenatalna stymulacja związkami bioaktywnymi (synbiotyki i cholina) może programować ekspresję genów w kolejnych pokoleniach, a PGC poddane kriokonserwacji stanowią solidną strategię do zachowania linii zarodkowych i badań funkcjonalnych. Razem wyniki te podkreślają wpływ czynników mikrobiologicznych i żywieniowych na długoterminowe wyniki metaboliczne i immunologiczne oraz wzmacniają znaczenie biologii komórek zarodkowych w kontekście zarówno eksperymentalnym, jak i praktycznym transmisji zmian epigenetycznych.