

## Streszczenie

Rodzinna polipowatość gruczolakowata (ang. *familial adenomatous polyposis*; FAP) jest dziedziczną predyspozycją do tworzenia się polipów okrężnicy, które nie leczone prowadzą do nowotworu jelita grubego (CRC). Czynnikiem sprawczym FAP są mutacje germinalne w genie supresorowym *APC* (ang. adenomatous polyposis coli). Nasilenie polipowatości różni się znacznie w rodzinach nawet z tą samą mutacją sprawczą w genie *APC*, co świadczy o znaczeniu innych czynników genetycznych, epigenetycznych i poza genetycznych w etiopatogenezie tej choroby. Postępująca, stopniowa akumulacja mutacji w genach supresorowych i onkogenach prowadzi polipy do transformacji nowotworowej.

Świnie niosące mutację terminującą translację w kodonie 1311 genu *APC* ortologiczną w stosunku do dominującej mutacji człowieka (*APC<sup>1309</sup>*), stanowią pierwszy duży model zwierzęcy dla ludzkiego FAP i nowotworu jelita grubego, odzwierciedlający nasilenie polipowatości u ludzi (Flisikowska i wsp., 2012). Kolejne pokolenia świń *APC<sup>1311/+</sup>* doprowadziły do wyodrębnienia dwóch linii o zróżnicowanym stopniu nasilenia polipowatości w zależności od udziału genów z puli genowej rasy pietrain. Sklasyfikowano je jako zwierzęta o niskiej (ang. *low polyps*; LP) lub wysokiej (ang. *high polyps*; HP) polipowatości. Świnie LP posiadały wyższy udział genów rasy pietrain, w porównaniu z linią HP. Celem badań było poszukiwanie związku między zmiennością polipowatości u świń *APC<sup>1311/+</sup>* z polimorfizmem i ekspresją wytypowanych genów kandydujących (*TP53*, *CSF1R* i *WISP1*).

Gen *TP53* wytypowano ze względu na kluczowe znaczenie kodowanego białka w kontroli proliferacji komórek nowotworowych. Zbadano związek jego polimorfizmów i ekspresji z poziomem polipowatości i progresji polipów we wczesnym stadium FAP u świń *APC<sup>1311/+</sup>*. Zidentyfikowano 19 polimorfizmów w sekwencji 5'-flankującej, kodującej i 3'UTR. Jednak rozkład genotypów nie różnił się istotnie między świnią LP i HP. Względny poziom mRNA *TP53* analizowano w próbkach prawidłowej błony śluzowej jelita grubego świń kontrolnych, świń *APC<sup>1311/+</sup>* (linie LP i HP), a także w próbkach polipów sklasyfikowanych histologicznie jako polipy o niskim stopniu dysplazji śródbłonna (LG-IEN) i wysokim stopniu dysplazji śródbłonna (HG-IEN) świń *APC<sup>1311/+</sup>*. Względny poziom transkryptu *TP53* był znacząco podwyższony w próbkach HG-IEN w porównaniu z próbkami LG-IEN ( $p=0,012$ ), co sugeruje zaangażowanie tego genu we wczesnym stadium przednowotworowym.

Kolejne dwa geny objęte badaniami wytypowano w oparciu o wynik analizy RNA-seq, który ujawnił zróżnicowaną ekspresję *CSF1R* i *WISPI* w próbkach pochodzących z polipów LG-IEN i HG-IEN (Flisikowska i wsp., 2017). Analiza sekwencji genów *CSF1R* i *WISPI* ujawniła odpowiednio 32 i 36 polimorfizmów. W regionie promotorowym *CSF1R* cztery polimorfizmy podlegające kosegregacji w formie haplotypów były związane z polipowatością świń *APC<sup>I311/+</sup>*. Jednakże, ocena aktywności sekwencji promotorowej, wykonana przy pomocy testu wydzielonej alkalicznej fosfatazy (SEAP), nie wykazała związku wariantów haplotypowych z aktywnością promotora *CSF1R*.

W genie *WISPI* częstość czterech synonimicznych SNP w regionie kodującym różniła się znacząco między liniami LP i HP. Analiza *in silico* sekwencji obejmującej te warianty ujawniła podwyższoną minimalną energię swobodną (MFE) dla trzech z tych SNP, co może wskazywać na ich rolę w stabilności struktury mRNA.

Podsumowując, przeprowadzone analizy wykazały, że podwyższony poziom transkrypcji *TP53* jest charakterystyczny dla polipów znajdujących się w stadium poprzedzającym transformację nowotworową. Z kolei niektóre germinalne warianty genów *CSF1R* i *WISPI* mogą być uznane za obiecujące warianty związane z poziomem polipowatości. Uzyskane wyniki potwierdzają, że zmodyfikowane genetycznie świny są wartościowym modelem w przedklinicznych badaniach etiopatogenezy transformacji polipów FAP w stadia nowotworowe.