



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea

SCIENZE BIOLOGICHE

Sessione Estiva

A.A. 2022/2023

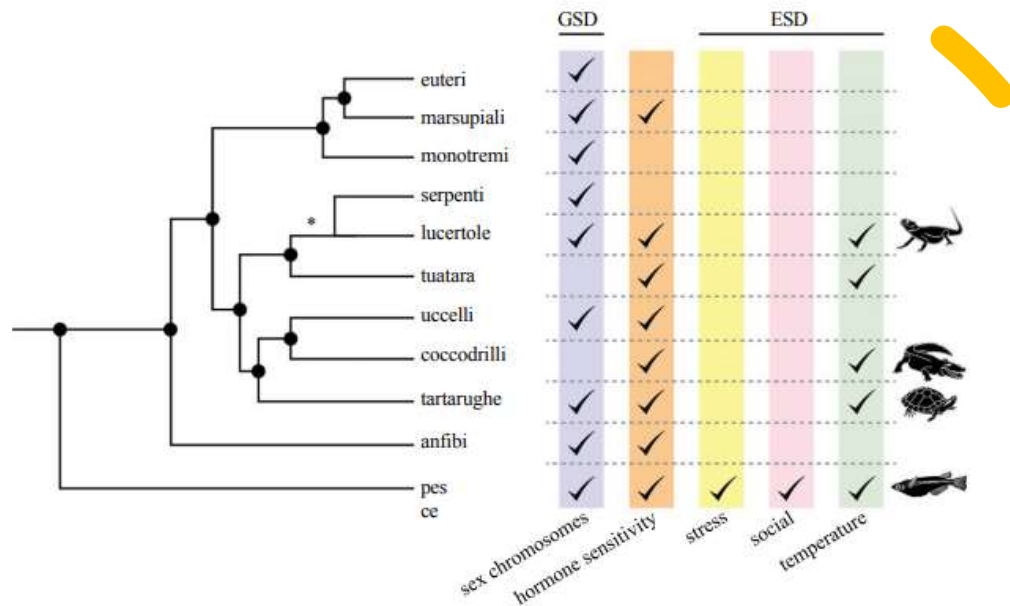
INFLUENZA DEI FATTORI AMBIENTALI SULLA DETERMINAZIONE SESSUALE

Tesi di Laurea di:

Francesca Costante

Docente referente:

Prof. ssa Maria Assunta Biscotti



INTRODUZIONE

La determinazione del sesso è il processo attraverso il quale un organismo si differenzia in maschio, femmina o ermafrodita.

Esistono diverse modalità di determinazione sessuale:

- GSD (determinazione genetica), a carico dei cromosomi sessuali
- ESD (determinazione ambientale), a carico di fattori quali temperatura, stress, dinamiche sociali...



In entrambi i casi intervengono alcuni regolatori genetici che indirizzano il destino della gonade a differenziarsi in ovaio o testicolo, a partire da una gonade precoce bipotenziale.

Questi regolatori non sono però attivati sempre nello stesso ordine e sebbene la ragione di questo fenomeno non sia ancora stata compresa, suggerisce che sia importante la rete complessiva piuttosto che una sequenza fissa di espressione.

Quando non sono presenti cromosomi sessuali o specifici determinanti genetici, quali meccanismi permettono il differenziamento della gonade? Qual è il collegamento tra le informazioni ambientali con le vie di determinazione del sesso?

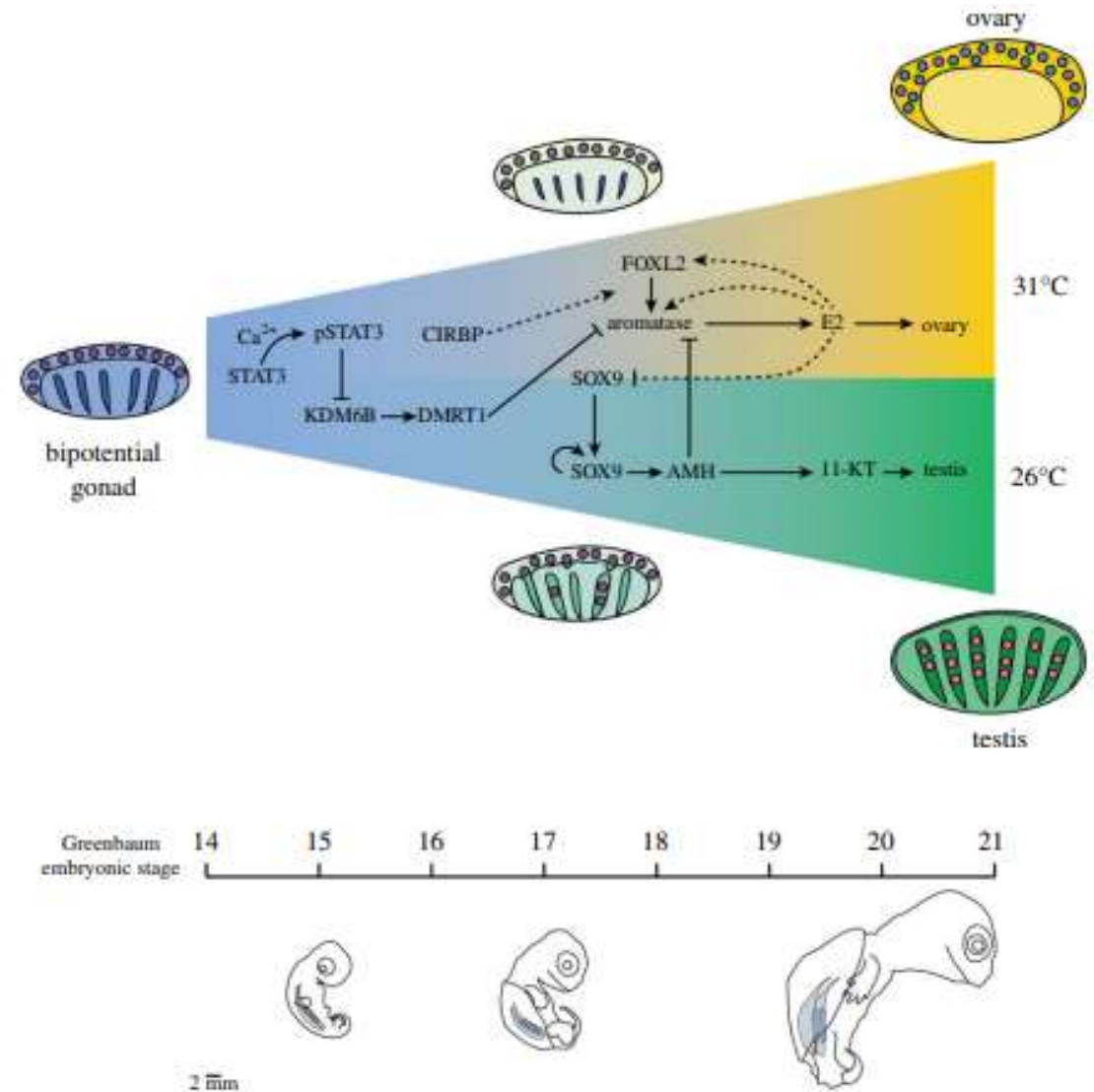
La determinazione del sesso è un processo cumulativo.

I percorsi di determinazione del sesso femminile e maschile iniziano nella gonade bipotenziale e sono mantenuti nel corso di più stadi embrionali fino alla stabilizzazione del destino dell'ovaio o del testicolo.

Entrambi i percorsi di determinazione sessuale, in generale, coinvolgono gli stessi regolatori genetici che indirizzano il destino delle gonadi.

La temperatura svolge però un ruolo importante nel regolare l'espressione allelica, la stabilità delle proteine e lo splicing dell'RNA, controllando di conseguenza gli stessi regolatori genetici.

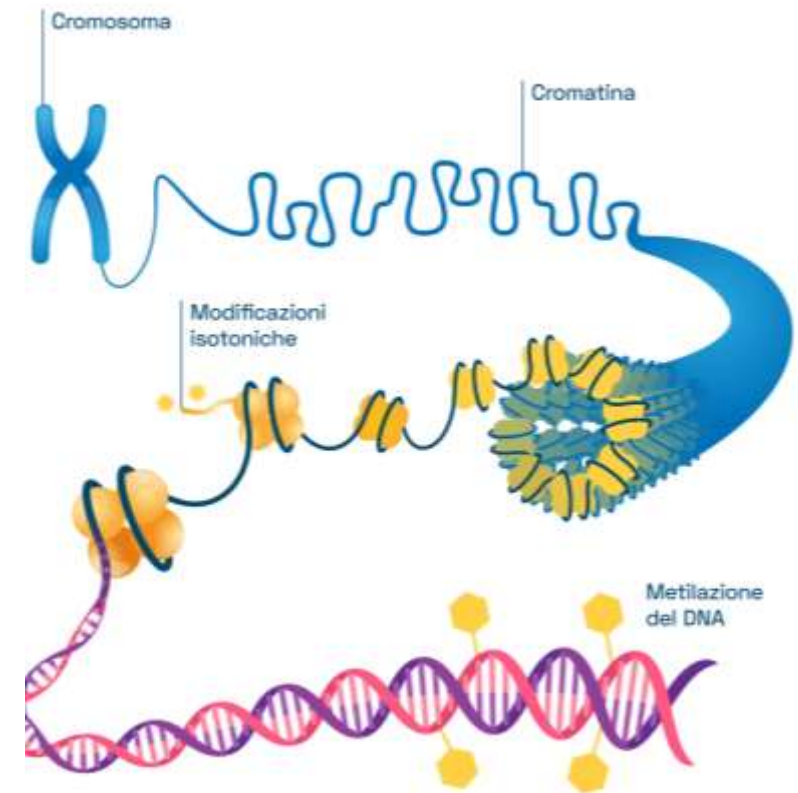
- SF1 e WT1 = sviluppo delle cellule gonadiche
- Aromatasi = per la produzione di estrogeni
- FOXL2 = per il differenziamento di cellule di supporto femminili
- SOX9 = permette la formazione del testicolo
- AMH = inibisce lo sviluppo del tratto riproduttivo femminile



CONTROLLO EPIGENETICO NELLA DETERMINAZIONE SESSUALE

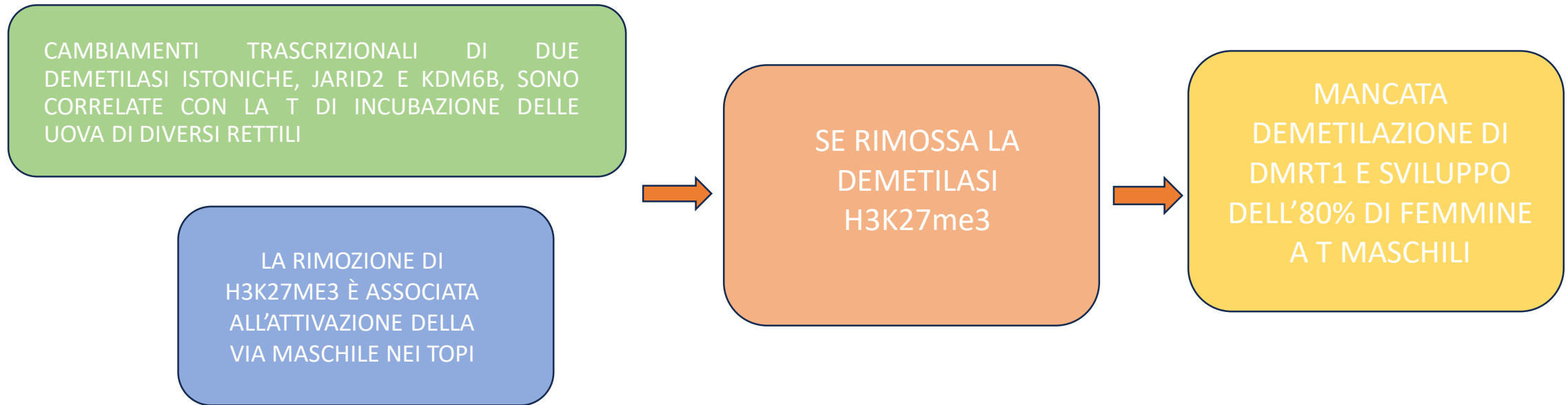
Lo stato epigenetico dei geni per la determinazione sessuale permette l'attivazione di specifici percorsi per l'ovaio o il testicolo, sia nella via GSD che in quella ESD.

1. Nel topo i progenitori delle cellule di supporto delle gonadi portano **marchi istonici** attivi e repressivi (H3K4me e H3K27me3), bivalentemente predisposti per l'attivazione o repressione della gonade.
2. Anche la **metilazione** svolge un ruolo importante nel differenziamento sessuale: alte temperature (ma ruolo non ancora ben chiarito) o l'esposizione a tossine ambientali (PCB) hanno portato ad un aumento della metilazione in un promotore dell'aromatasi.
3. Ruolo delle **modificazioni istoniche**



La regolazione epigenetica e quindi le modificazioni istoniche sono in realtà un punto di incontro tra la temperatura (determinazione ambientale) e i diversi percorsi molecolari che includono diversi fattori.

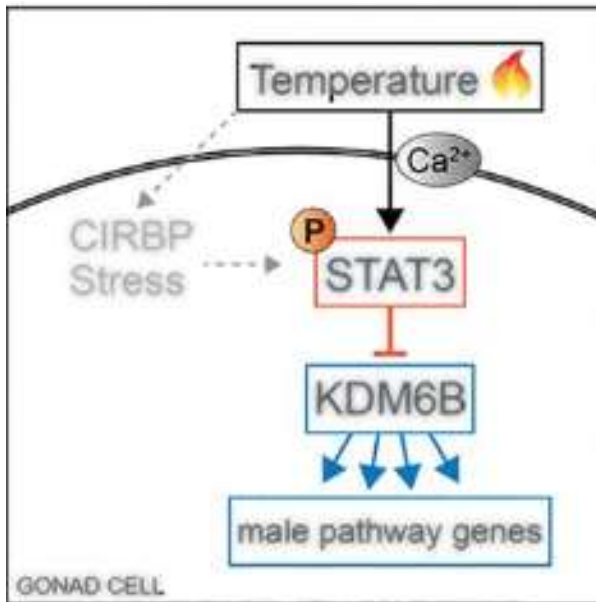
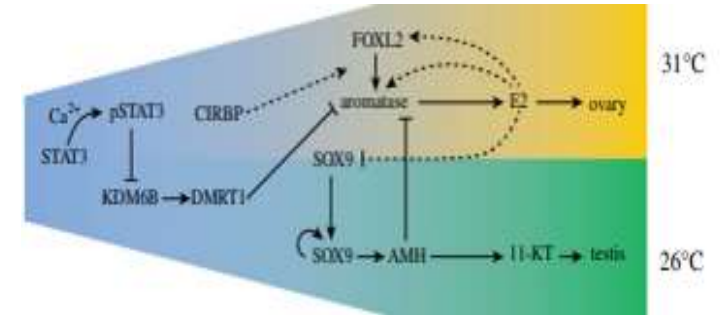
È stato condotto uno studio su diverse specie di rettili per determinare l'importanza del controllo epigenetico nel differenziamento sessuale:



RUOLO DELLE PROTEINE

L'espressione di KDM6b è specifica per la temperatura che porta allo sviluppo di gonadi maschili e sono stati indagati dei regolatori noti di KDM6b in altri contesti, come il trasduttore e attivatore del segnale di trascrizione 3 (**STAT3**).

STAT3 codifica per la proteina pSTAT3 (che normalmente inibisce KDM6b), regolata a sua volta in base allo stato di fosforilazione della tirosina 705. Per verificare il ruolo di STAT3 su KDM6b sono stati utilizzati diversi inibitori per bloccare la fosforilazione e dimerizzazione.

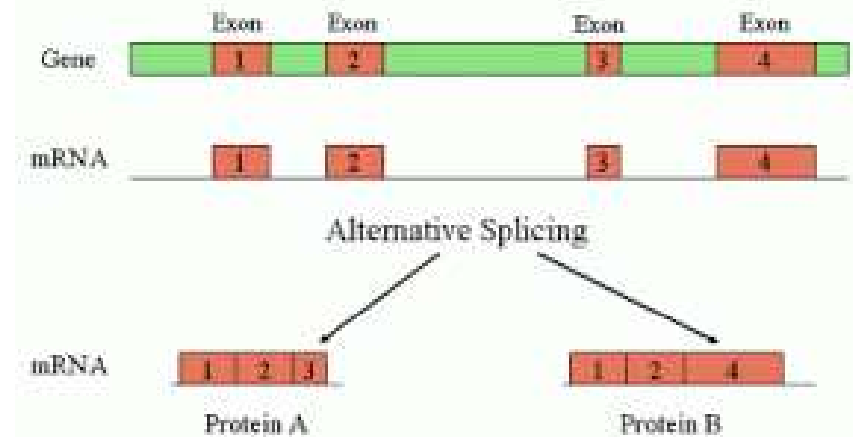


La fosforilazione di STAT3 è regolata da vie di segnalazione del Calcio, attivate in risposta alla temperatura e ad altri stimoli ambientali.

Un esempio di canali ionici regolatori sono i canali del potenziale recettoriali transiente (TRP) che si aprono o si chiudono in risposta ad altri stimoli esterni, tra cui dolore, pressione e gusto e in risposta a cambiamenti della concentrazione di cationi, come il Ca²⁺: TRPV4 e TRPV1

La temperatura può anche attivare CIRBP che a sua volta attiva pSTAT3

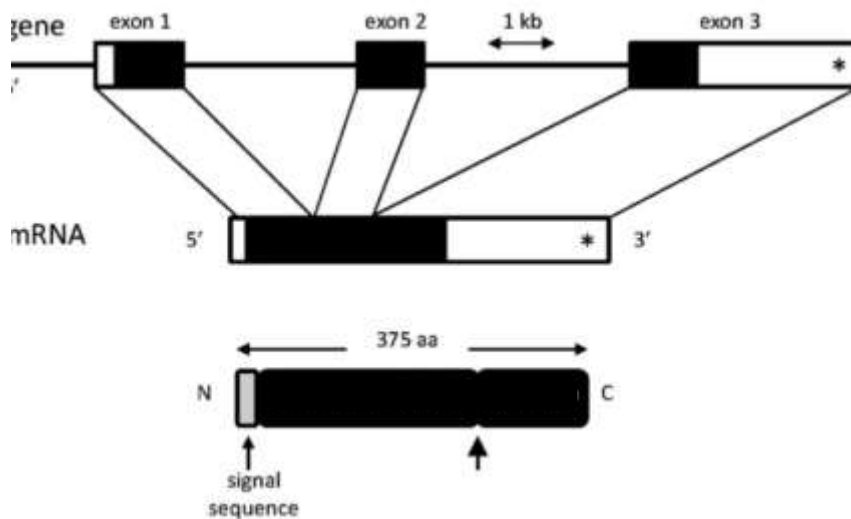
RUOLO DELLO SPLICING



Lo splicing alternativo permette l'avvio o il mantenimento della determinazione sessuale nei Vertebrati.

Studio di splicing alternativo in tre diversi rettili con TSD: in tutti i casi ha portato alla rimozione di un introne e all'introduzione di un codone di stop prematuro, generando una proteina non funzionale.

Lo splicing alternativo potrebbe anche fornire l'input iniziale ed indirizzare un percorso rispetto ad un altro: l'attività delle chinasi CDC like risponde alla temperatura fisiologica tramite diversi tipi di splicing.



PROTEINE LA CUI ATTIVITÀ È INFLUENZATA DALLA TEMPERATURA

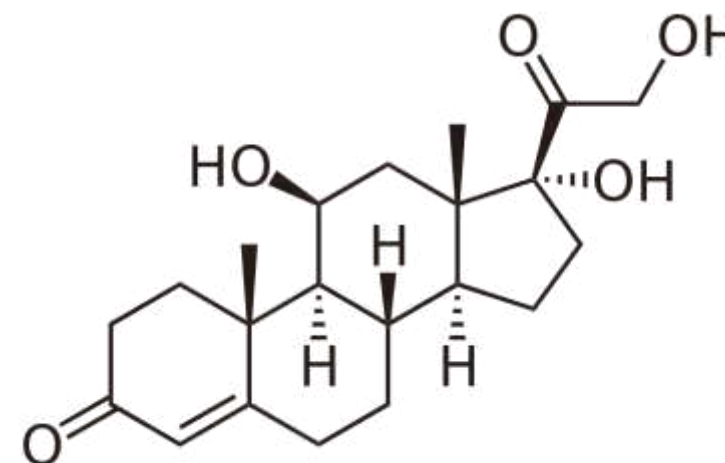
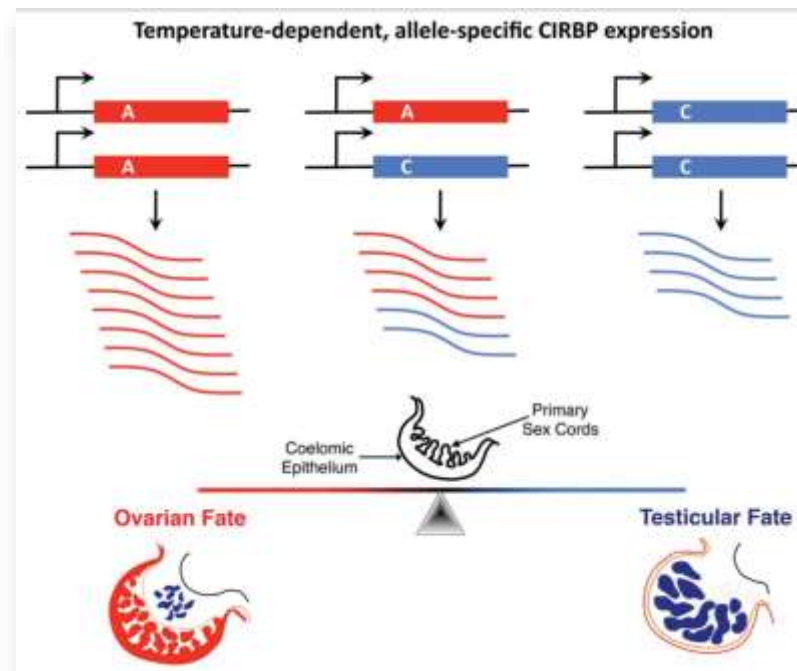
Le heat shock proteins (HSP) sono proteine sensibili allo stress da calore e sono implicate anche in altre risposte fisiologiche, funzionando da chaperoni molecolari per facilitare il corretto ripiegamento proteico.

1- **CIRBP**: identificato un polimorfismo a singolo nucleotide termosensibile che risponde a diversi stimoli ambientali, contribuendo a stabilizzare l'mRNA.

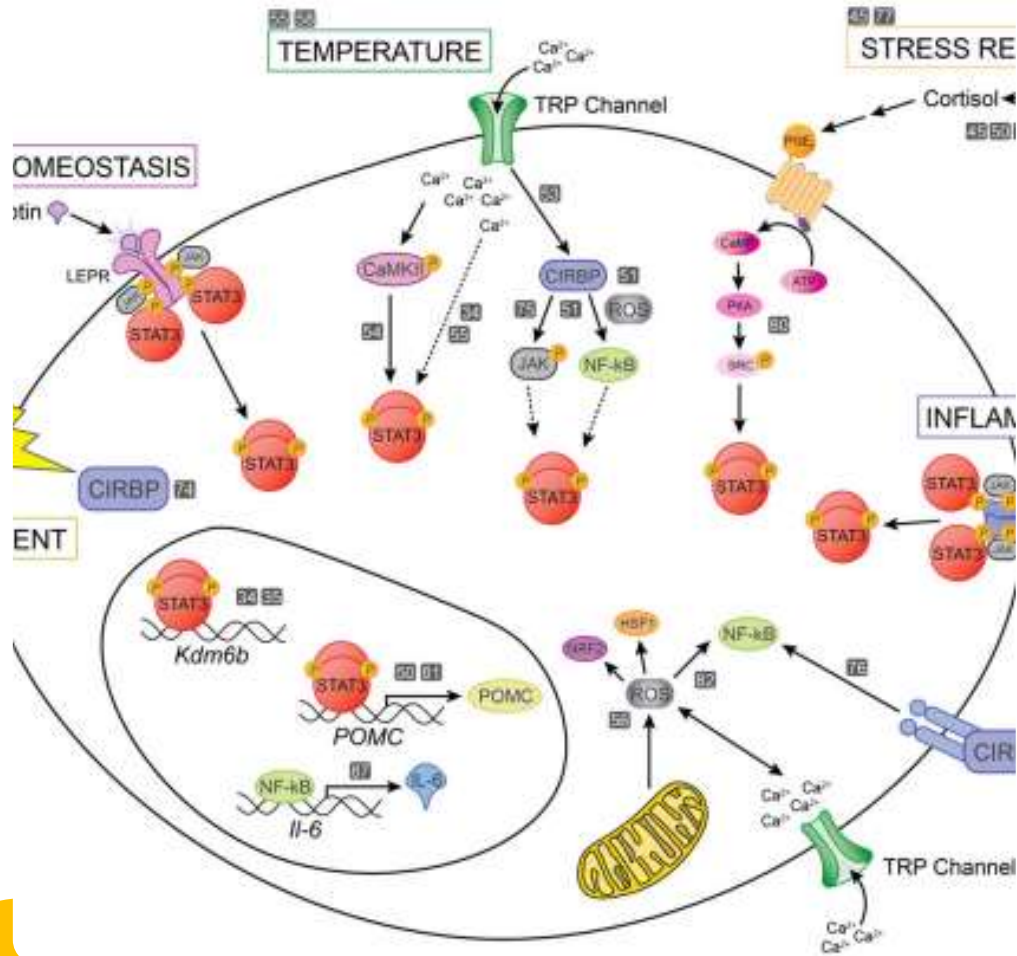
- In *Chelydra serpentina* → allele A di CIRBP è stato indotto a T calde che portano allo sviluppo di gonadi femminili e i genotipi AA hanno permesso un maggior sviluppo delle ovaie
- Nelle tartarughe → influenza lo sviluppo TSD
- Regola la fosforilazione di STAT3 tramite diverse segnalazioni

2- **CORTISOLO**: influisce sulla sintesi degli ormoni steroidei attraverso le gonadotropine rilasciate dall'ipofisi

- Nelle specie protogine → se muore il maschio dominante si ha una diminuzione del cortisolo nella femmina alfa con conseguente transizione in maschio fertile
- Negli uccelli → modificando i livelli di cortisolo nel tuorlo si modificano i rapporti sessuali



CONCLUSIONE



La determinazione del sesso è una sintesi complessa di molti eventi molecolari.

In assenza di cromosomi sessuali, l'inizio e la stabilizzazione del destino sessuale coinvolgono percorsi post-trascrizionali, post-traduzionali e metabolici che influenzano gli eventi di regolazione genica.

Un accumulo di eventi molecolari sarà sufficiente per mantenere e stabilizzare una via e reprimere quella alternativa.

È probabile, infatti, che non esista un unico regolatore di questo processo, quanto piuttosto un insieme di eventi molecolari che indirizzano un destino rispetto ad un altro.



BIBLIOGRAFIA

- Weber C, et al. (2020) Temperature-dependent sex determination is mediated by pSTAT3 repression of Kdm6b. *Science* 368, 303-306.
 - Michael AM, Bernard A. (2022) Neurobiology and changing ecosystems: toward understanding the impact of anthropogenic influences on neurons and circuits. *Frontiers in Neural Circuits* 16:995354.
 - Weber C, Capel B. (2021) Sex determination without sex chromosomes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 376(1832):20200109.
-

RIASSUNTO ESTESO

- La determinazione del sesso è una sintesi di diversi eventi molecolari che permettono il differenziamento cellulare verso un determinato destino. Senza un particolare determinante genetico, però, come può essere attivata una specifica via di determinazione sessuale?
- Per l'attivazione di percorsi specifici per l'ovaio o il testicolo, nelle specie GSD e ESD sembra essere importante lo stato epigenetico dei geni e la metilazione di determinati precursori di differenziamento, che rappresentano un punto di incontro tra temperatura e regolatori genetici
- Alcune proteine sono sensibili alla temperatura di produzione femminili o maschili: un esempio è Kdm6b, specifica per la T maschile. È stata studiata la sua funzione indagando dei regolatori noti di Kdm6b, come STAT3 che codifica per una proteina attivata in seguito a fosforilazione del residuo tirosinico 70S
- Lo splicing alternativo è un altro regolatore di differenziamento sessuale e permette l'avvio o il mantenimento di uno specifico percorso di determinazione del sesso.
- Le HSP sono proteine sensibili alla T che svolgono un ruolo come chaperoni cellulari facilitando il corretto ripiegamento nella struttura terziaria delle proteine; sono state identificate due proteine, CIRBP e il cortisolo, che reagiscono alla T rispettivamente tramite induzione di alleli specifici per gli organismi femminili o tramite l'attivazione delle vie ipotalamo-ipofisi-gonade.