

WYDZIAŁ LEKARSKI

ROZPRAWA NA STOPIEŃ DOKTORA NAUK MEDYCZNYCH

Ocena ekspresji wybranych genów oraz mikro-RNA regulujących przejście epitelialno-mezenchymalne (*ang. Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT*) jako potencjalnych biomarkerów diagnostycznych w endometriozie

Lek. med. ANNA ZUBRZYCKA

PROMOTOR:

Prof. dr hab. n. med. Ewa Brzeziańska-Lasota
Kierownik Katedry Biologii i Mikrobiologii Medycznej
Kierownik Zakładu Biomedycyny i Genetyki UM w Łodzi

PROMOTOR POMOCNICZY:

Dr n. med. Monika Migdalska-Sęk
Zakład Biomedycyny i Genetyki UM w Łodzi

Streszczenie w języku polskim

Endometrioza jest przewlekłą, estrogenozależną chorobą polegającą na występowaniu tkanki endometrium poza jamą macicy, co w wielu przypadkach wiąże się z bólem i/lub niepłodnością. Choroba ta dotyka 6-10% kobiet w wieku rozrodczym. Do chwili obecnej nie określono jednoznacznie jej patogenezy, ani nie opracowano w pełni skutecznego biomarkera i schematu leczenia. Wiadomo, że istotny wpływ na etiopatogenezę choroby mają zaburzenia genetyczne i epigenetyczne w organizmie chorych kobiet, w tym zmiany w ekspresji wielu genów i miRNA, kontrolujących szerokie spektrum prawidłowych i patologicznych funkcji w komórkach endometrium. Sugeruje się, że jednym z mechanizmów, które biorą udział w rozwoju i rozprzestrzenianiu się ognisk endometrialnych, jest przejście nabłonkowo-mezenchymalne (EMT). Stwierdzono, że w EMT w przebiegu endometriozy zaangażowanych jest wiele białek i szlaków sygnałowych, w tym czynniki transkrypcyjne, mikroRNA, modyfikacje genetyczne i epigenetyczne.

Celem rozprawy doktorskiej było określenie profilu ekspresji wybranych genów i miRNA regulujących EMT oraz ocena ich potencjału jako biomarkerów diagnostycznych w endometriozie. Stąd też przedmiotem badań eksperymentalnych była analiza względnych średnich wartości ekspresji (RQ) markerów EMT (*TGF- β 1*, *SMAD3*, *SMAD4*, *ILK*, *BMP7*, *CDH1*) i miR-21, miR-542-3p w sparowanym eutopowym (EUE) i ektopowym endometrium (ECE) oraz w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (PBMC) kobiet z rozpoznaną endometriozą w stosunku do zdrowych kobiet. Przeprowadzono także analizę korelacji uzyskanych danych z przebiegiem klinicznym choroby. Dokonano również przeglądu systematycznego na temat profilowania ekspresji krążącego miRNA (miR-200, miR-let-7, miR-20a, miR-199a, miR-143 oraz miR-145) w endometriozie.

Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono znamienne różny wzór ekspresji badanych genów (*TGF- β 1*, *SMAD3*, *SMAD4*, *ILK*, *BMP7*, *CDH1*) oraz miR-21 i miR-542-3p pomiędzy sparowaną tkanką eutopową i ektopową kobiet z endometriozą, który wskazuje na zmianę fenotypu molekularnego komórek nabłonka endometrium w przebiegu choroby.

Uzyskane wyniki sugerują regulacyjną rolę miR-21 dla *TGF- β 1* – głównego promotora EMT, z kolei miR-542-3p może bezpośrednio celować w sygnalizację BMP biorącej udział w decydualizacji u kobiet z endometriozą.

Niniejsza rozprawa podkreśla kluczową rolę osi miR-21-TGF- β 1-SMAD3-ILK oraz miR-542-3p-BMP7-SMAD4-CDH1 w złożonym mechanizmie molekularnym pozostającym u podłoża etiopatogenezy endometriozy.

Przedstawiony do oceny cykl publikacji dostarcza również dowodów, że ekspresja krążącego miRNA (np. miR-200, miR-let-7, miR-20a, miR-199a, miR-143 oraz miR-145) jest symptomatyczna dla choroby, z wyraźnie inną ekspresją u kobiet dotkniętych endometriozą niż u osób zdrowych.

Ocena profilu ekspresji miRNA, szczególnie w panelu z genami nie tylko otwiera nowe horyzonty w zrozumieniu zdarzeń molekularnych zaangażowanych w patogenezę i patomechanizm endometriozy, ale również cząsteczki te mają potencjał jako biomarkery choroby w kontekście próby opracowania nieinwazyjnego narzędzia diagnostycznego.

Streszczenie w języku angielskim

Endometriosis is a chronic, estrogen-dependent disease involving the presence of endometrial tissue outside the uterine cavity, which is associated with pain and/or infertility in many cases. The disease affects 6-10% of women of reproductive age. To date, its pathogenesis has not been clearly determined, nor has a fully effective biomarker and treatment regimen been developed. Genetic and epigenetic disorders in the body of affected women, including changes in the expression of many genes and miRNAs, controlling a wide spectrum of normal and pathological functions in endometrial cells, are known to have a significant impact on the etiopathogenesis of the disease. It has been suggested that one of the mechanisms involved in the development and spread of endometrial foci is epithelial-mesenchymal transition (EMT). Numerous proteins and signaling pathways, including transcription factors, microRNAs, genetic and epigenetic modifications have been found to be involved in EMT in the course of endometriosis.

The aim of the doctoral dissertation was to determine the expression profile of the selected genes and miRNAs regulating EMT and to assess their potential as diagnostic biomarkers in endometriosis. Therefore, the subject of experimental studies was the analysis of the relative mean expression values (RQ) of the EMT markers (*TGF- β 1*, *SMAD3*, *SMAD4*, *ILK*, *BMP7*, *CDH1*) and miR-21, miR-542-3p in paired eutopic (EUE) and ectopic endometrium (ECE) and in peripheral mononuclear blood cells (PBMCs) of women diagnosed with endometriosis in comparison with healthy women. An analysis of the correlation of the obtained data with the clinical course of the disease was also conducted. A systematic review on the profiling of circulating miRNA expression (miR-200, miR-let-7, miR-20a, miR-199a, miR-143 and miR-145) in endometriosis was also carried out.

Based on the obtained research results, a significantly different pattern of expression of the examined genes (*TGF- β 1*, *SMAD3*, *SMAD4*, *ILK*, *BMP7*, *CDH1*) and miR-21, miR-542-3p was found between paired eutopic and ectopic tissue of women with endometriosis, which indicates a change in the molecular phenotype of endometrial epithelial cells in the course of the disease.

The results suggest a regulatory role of miR-21 for *TGF- β 1*, the main promoter of EMT, while miR-542-3p may directly target BMP signaling involved in decidualization in women with endometriosis.

The dissertation highlights the key role of the miR-21-TGF- β 1-SMAD3-ILK and miR-542-3p-BMP7-SMAD4-CDH1 axes in the complex molecular mechanism underlying the etiopathogenesis of endometriosis.

The series of publications presented for evaluation also provides evidence that the expression of circulating miRNA (e.g. miR-200, miR-let-7, miR-20a, miR-199a, miR-143 and miR-145) is symptomatic of the disease, with significantly different expression in women affected by endometriosis than in healthy subjects.

The assessment of the miRNA expression profile, especially in the gene panel, not only opens up new horizons in understanding the molecular events involved in the pathogenesis and pathomechanism of endometriosis, but also these molecules have a potential as biomarkers of the disease in the context of an attempt to develop a non-invasive diagnostic tool.