

## Streszczenie

### Wstęp:

Zespół policystycznych jajników (ang. *polycystic ovary syndrome* – PCOS) jest jednym z częściej występujących zaburzeń endokrynologicznych i metabolicznych o zróżnicowanym obrazie. Schorzenie to dotyka do 13% kobiet w wieku reprodukcyjnym. Głównymi objawami PCOS są zaburzenia miesiączkowania, nadmiar androgenów oraz występowanie policystycznych jajników w obrazie USG. PCOS charakteryzuje się również częstszym występowaniem zaburzeń metabolicznych, w tym insulinooporności (ang. *insulin resistance* – IR) czy otyłości. Pomimo wielu badań nad patomechanizmem PCOS przyczyna tego zespołu nadal nie jest do końca poznana, czego konsekwencją jest długotrwała diagnostyka i trudności w szybkim wdrożeniu odpowiedniego leczenia.

W ostatnim czasie pojawiło się wiele prac wskazujących na udział miRNA w patomechanizmie różnych chorób, w tym również PCOS. MiRNA to małe niekodujące cząsteczki regulujące ekspresję genów na poziomie potranskrypcyjnym. Jedną z zalet miRNA jest niewątpliwie jego duża stabilność w płynach ustrojowych nawet po długotrwałym przechowywaniu w obecności aktywnych rybonukleaz, co czyni go potencjalnie dobrym biomarkerem zmian chorobowych postępujących w organizmie. Dotychczas brak jest takiego markera dla PCOS, który byłby pomocny w postawieniu jednoznacznej diagnozy i tym samym przyspieszyłby diagnostykę oraz przyczyniłby się do lepszego poznania patofizjologii choroby.

### Cel pracy:

Celem pracy było określenie charakterystycznego profilu izoform miRNA w surowicy kobiet z PCOS, który różnicowałby ją od grupy zdrowych kobiet. Ocena związku tych miRNA z parametrami antropometrycznymi i biochemicznymi oraz znalezienie szlaków sygnałowych w których uczestniczą wytypowane miRNA.

### Materiały:

Do badania wytypowany został materiał od 32 kobiet w wieku od 19 do 38 lat. Grupę badaną stanowiło 15 kobiet zdiagnozowanych w Katedrze i Klinice Endokrynologii, Diabetologii i Leczenia Izotopami Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Rozpoznanie choroby oparte zostało o kryteria Rotterdamskie. Grupę kontrolną stanowiło 17 kobiet zdrowych, prawidłowo miesiączkujących. Obie grupy dopasowano do siebie pod względem wieku i pochodzenia etnicznego kobiet.

## Metody:

U wszystkich kobiet przeprowadzony został wywiad chorobowy z oceną parametrów antropometrycznych oraz wykonana została ocena badań biochemicznych (parametry hormonalne, metaboliczne, profil lipidowy). Wyliczono wskaźnik wolnych androgenów (ang. *free androgen index* - FAI), wskaźniki insulinooporności (HOMA-IR i QUICKI) oraz osoczowy wskaźnik aterogenny (ang. *atherogenic index of plasma* – AIP). U wszystkich kobiet został wyizolowany całkowity RNA z surowicy, a następnie przeprowadzono syntezę cDNA. Ekspresję 179 miRNA charakterystycznych dla surowicy, przeprowadzono z wykorzystaniem techniki real-time PCR. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej. Wartości p mniejsze niż 0,05 zostały uznane za istotne statystycznie. Dla wytypowanych miRNA została przeprowadzona analiza bioinformatyczna w celu powiązania ich z oddziaływaniem na poszczególne procesy w organizmie.

## Wyniki:

Grupa pacjentek z PCOS miała znacząco większe wskaźniki BMI, WHR oraz obwód talii i bioder. Nie wykazano natomiast różnic pomiędzy grupami w zakresie ciśnienia tętniczego krwi. Grupę badaną charakteryzowały istotnie większe stężenia testosteronu całkowitego, androstendionu, siarczanu dehydroepiandrosteronu, lutropiny oraz wartość FAI. Nie obserwowano różnic w zakresie stężeń białka wiążącego hormony płciowe, folikulotropiny, estradiolu czy tyreotropiny. Kobiety z PCOS wykazywały znacząco większe stężenie insuliny oraz wartości wskaźników HOMA-IR, a wartość wskaźnika QUICKI była znacząco mniejsza. Nie wykazano natomiast różnic istotnych statystycznie w stężeniu glukozy między grupami. Nie obserwowano znaczących różnic w zakresie parametrów gospodarki lipidowej pomiędzy grupą badaną, a kontrolną. Istotność statystyczną wykazało natomiast białko C-reaktywne, którego stężenie było większe w grupie badanej.

W grupie kobiet z PCOS wykazano istotnie ( $p=0,023$ ) wyższą ekspresję izoformy miRNA let-7e-5p względem grupy kontrolnej. Wykazano dodatnią korelację pomiędzy wytypowanym miRNA let-7e-5p, a stężeniem insuliny na czczo ( $R=0,531$ ;  $p=0,00177$ ). Na podstawie badań biochemicznych z grupy badanej wyodrębniono podgrupę z PCOS i IR, u której wykazano różnice w ekspresji będące istotne statystycznie dla miRNA let-7e-5p, miR-99a-5p, miR-122-5p oraz miR-361-5p względem grupy kontrolnej. Analiza korelacji nadekspresjonowanych cząsteczek miR-99a-5p, miR-122-5p z parametrami

biochemicznymi wykazała, że są one związane z insuliną oraz wskaźnikiem HOMA. Natomiast analiza korelacji cząsteczki miR-361-5p o obniżonej ekspresji względem grupy kontrolnej wykazała związek z wartością FAI.

Po przeprowadzonej analizie bioinformatycznej zidentyfikowano cele genowe dla let-7e-5p, które obejmowały tylko jeden szlak sygnałowy PI3K-Akt. Natomiast cele genowe dla let-7e-5p, miR-99a-5p oraz miR-122-5p wykazały cztery szlaki sygnałowe: szlak sygnałowy Wnt, MAPK, cukrzycy typu 2 oraz szlak sygnałowy PI3K-Akt.

#### Wnioski:

Kobiety z PCOS różnią się profilem miRNA w porównaniu do kobiet z grupy kontrolnej. Istotnie zwiększona była ekspresja let-7e-5p w surowicy kobiet z PCOS i hiperinsulinemią oraz większym wskaźnikiem HOMA-IR. Dodatkowa analiza wykazała, że IR w PCOS wpływa na zmiany w surowicy takich miRNA jak, let-7e-5p, miR-122-5p, miR-99a-5p, miR-361-5p. Zmienione ekspresje miRNA są zaangażowane w wiele ważnych ścieżek sygnałowych związanych z dysfunkcjami metabolicznymi występującymi w PCOS takimi jak, szlak sygnałowy PI3K-Akt, szlak sygnałowy Wnt, szlak sygnałowy MAPK czy szlak sygnałowy cukrzycy typu 2. Wyniki te mogą pomóc ukierunkować poszukiwania miRNA jako istotnych markerów dla PCOS i ich większego związku z zaburzeniami metabolicznymi. Potrzeba jednak dalszych badań wytypowanych miRNA przeprowadzonych na dużo większej grupie kobiet.