

Streszczenie w języku polskim

Wstęp: Zespół pseudoeksfoliacji (PEX) jest ważnym klinicznie i intrygującym biologicznie układowym zaburzeniem macierzy pozakomórkowej. Jest chorobą związaną z wiekiem, w której dochodzi do gromadzenia się nieprawidłowego materiału w przednim odcinku gałki ocznej, a także w innych narządach. Mimo bardzo licznych badań, dokładna etiopatogeneza PEX pozostaje nieznana. MikroRNA (miR) są jednoniciowymi, niekodującymi, endogennymi cząsteczkami regulacyjnymi, których rola w PEX nie była zbadana dotychczas. Ich główną funkcją jest potranskrypcyjna regulacja ekspresji licznych genów, dzięki temu są wiodącą klasą regulatorów genów.

Cel pracy: Celem pracy była analiza zmienności ekspresji wybranych mikroRNA w zespole pseudoeksfoliacji. Cele szczegółowe obejmowały porównanie ekspresji miR-125b pomiędzy osobami z PEX a grupą kontrolną, z jaskrą pierwotną otwartego kąta i z jaskrą pseudoeksfoliacyjną oraz określenie wpływu wybranych czynników środowiskowych na ekspresję miR-125b. Dodatkowymi celami było utworzenie profilów, a następnie porównanie najczęściej występujących miR w PEX, porównanie ekspresji miR, które inni badacze wyodrębnili jako istotne w PEX, jaskrze i zaćmie, próba wyodrębnienia miR związanych z PEX, których ekspresja powinna być szczegółowo zbadana w dalszych badaniach oraz zbadanie korelacji poziomu ekspresji wybranych miR z wiekiem.

Material i metody: Centralny fragment przedniej torebki soczewki był pobierany podczas zabiegu usunięcia zaćmy. Przeprowadzono analizę ekspresji miR-125b u 150 pacjentów za pomocą Real-time PCR oraz sekwencjonowanie miR u 10 pacjentów za pomocą miSeq. Użyto testu t-studenta, testu chi-kwadrat, pakietu edgeR, współczynnika korelacji Pearsona oraz Kendalla.

Wyniki: Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami odnośnie wieku i płci. Poziom ekspresji miR-125b był zwiększony w każdej z badanych grup w porównaniu z grupą kontrolną. Analiza jakościowa ujawniła statystycznie istotne 3,33-krotnie wyższe poziomy miR-125b w PEX. Analiza ilościowa ekspresji miR-125b przeprowadzona między połączoną grupą, składającą się ze wszystkich pacjentów z zespołem pseudoeksfoliacji z jaskrą lub bez a grupą kontrolną, ujawniła statystycznie istotną różnicę. Niższy poziom ekspresji miR-125b stwierdzono u pacjentów palących papierosy w porównaniu do osób niepalących. Te same 10 miR występują w największym stężeniu w grupie kontrolnej oraz PEX. 5 najliczniejszych miR stanowiło 90% (miR-184, let-7a-5p, let-7c-5p, let-7f-5p,

miR-204-5p). Wyróżniono 4 miR o statystycznie istotnej różnicy w ekspresji pomiędzy grupami – miR-671-3p, miR374a-5p, miR-1307-5p oraz miR-708-5p. Zbadano również miR, które inni autorzy uznali za istotne w cieczy wodnistej, krwi oraz torebce soczewki, nie stwierdzając istotnych statystycznie różnic w obecnym badaniu. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy ekspresją miR a wiekiem.

Wnioski: Po raz pierwszy zbadano ekspresję miR w PEX z materiału torebki soczewki. Ciekawym i innowacyjnym aspektem pracy było wykazanie:

- istotnej zależności pomiędzy współistnieniem PEX a podwyższoną ekspresją miR-125b w torebce soczewki oka w porównaniu z grupą kontrolną oraz braku istotnej różnicy w ekspresji miR-125b pomiędzy pacjentami z jaskrą pierwotną otwartego kąta oraz jaskrą pseudoeksfoliacyjną, porównując do grupy kontrolnej,
- istotnego wpływu palenia papierosów na ekspresję miR-125b,
- tych samych 10 miR występujących w największym stężeniu w PEX i w grupie kontrolnej oraz zidentyfikowanie 5 najliczniejszych miR, które stanowiły 90% wszystkich odczytów (miR-184, let-7a-5p, let-7c-5p, let-7f-5p, miR-204-5p),
- czterech miR o statystycznie istotnej różnicy w ekspresji pomiędzy grupami (miR-671-3p, miR374a-5p, miR-1307-5p oraz miR-708-5p), które mogą mieć kluczowe znaczenie, by zrozumieć etiologię PEX i których ekspresja powinna być szczegółowo określona w dalszych badaniach,

Dzięki porównaniu otrzymanej ekspresji miR z wynikami innych autorów stwierdzono, że materiał pobierany do badań ma kluczowe znaczenie we wnioskowaniu o roli miR w etiopatogenezie PEX. Należałoby zbadać ekspresję miR, pobierając ciecz wodnistą, krew oraz torebkę soczewki, by precyzyjnie ocenić zależności pomiędzy profilami i wykrytymi istotnymi różnicami pomiędzy ekspresją poszczególnych miR.

Wobec powyższych, jeszcze bardziej zasadne wydaje się badanie wpływu mikroRNA na biogenezę PEX. Dalsze badania nad ekspresją miR-671-3p, miR-374a-5p, miR-1307-5p, miR-708-5p oraz korelacja pomiędzy ekspresją miR-125b a poziomem białka P53 w PEX są potrzebne i mogą wykazać bardzo interesujące wyniki. MikroRNA, które są potężnym modulatorem aktywności komórek, dają nadzieję na efektywne strategie diagnostyczne i terapeutyczne dla PEX. Konieczne są dalsze badania w celu określenia roli miR w PEX.

8. Abstract

Introduction: Pseudoexfoliation syndrome (PEX) is an age-related clinically important and biologically intriguing systemic disorder of the extracellular matrix, in which abnormal material accumulates in the anterior segment of the eyeball, as well as in other organs, which makes PEX a systemic disease. Despite very numerous studies, the exact etiopathogenesis of PEX remains unknown. MicroRNAs (miR) are single-stranded, non-coding, endogenous regulatory molecule. Its role in PEX has not been studied so far. Their main function is post-transcriptional regulation of the expression of numerous genes that is way miR represent a leading class of gene regulators.

Aim of the study: The aim was to analyze the variability of expression of selected miR in pseudoexfoliation syndrome. The specific objectives included comparing miR-125b expression in PEX group with a control group, primary open angle glaucoma and pseudoexfoliative glaucoma, determining the effect of selected environmental factors on miR-125b expression. Additional goals were to create profiles, followed by a comparison of the most common miRs in PEX, a comparison of miRs expressions that other researchers identified as relevant in PEX, glaucoma and cataract, identification of PEX-related miRs which expression should be studied in detail in further studies, and checking correlation between the expression level of selected miRs and age.

Material and methods: A fragment of the anterior lens capsule was collected during cataract surgery. Analysis of miR-125b expression in 150 patients was performed by Real-time PCR and miR sequencing in 10 patients using miSeq. t-test, chi-square test, edgeR packet, Perason and Kendall correlation test were used.

Results: There were no statistically significant differences between the groups in age and sex. The expression level of miR-125b was increased in each of the study groups compared to the control group. Qualitative analysis revealed statistically significant 3.33-fold higher miR-125b expression in PEX. Quantitative analysis of miR-125b expression carried out between the combined group consisting of all patients with or without pseudoexfoliation syndrome and a control group revealed a statistically significant difference. Lower levels of miR-125b expression were found in smokers compared to non-smokers. The same 10 miRs occur at the highest concentration in the control group and PEX. The top 5 miRs were 90% of reads (miR-184, let-7a-5p, let-7c-5p, let-7f-5p, miR-204-5p). There were 4 miR with statistically significant difference in expression between the groups - miR-671-3p, miR374a-5p, miR-1307-5p and miR-708-5p. The miR, which other authors considered important

in aqueous humor, blood and the lens capsule, was investigated. No statistically significant differences were in this miR in the present study. There was no correlation between the expression of miR and age.

Conclusions: The expression of miR in PEX from the lens capsule material was examined for the first time. An interesting and innovative aspect of the work was to demonstrate:

- significant relationship between the coexistence of PEX and the increased expression of miR-125b in the lens capsule compared to control group and no significant difference in the groups of patients with primary open angle glaucoma and pseudoexfoliative glaucoma, compared to control group,
- significant effect of cigarette smoking, which lower miR-125b expression,
- the same 10 miRs present at the highest concentration in PEX and in the control group and 90% of all readings were 5 most numerous miRs (miR-184, let-7a-5p, let-7c-5p, let-7f-5p, miR -204-5p)
- four miRs with a statistically significant difference in expression between the groups (miR-671-3p, miR374a-5p, miR-1307-5p and miR-708-5p) that can be crucial to understand the etiology of PEX and which expression should be checked in further studies.

In view of the above, it seems even more reasonable to study the effect of microRNA on PEX biogenesis. Further research on the expression of miR-671-3p, miR-374a-5p, miR-1307-5p, miR-708-5p and correlation between miR-125b expression and P53 levels in PEX are needed and can show very interesting results.

By comparing the obtained miR expression with the results of other authors, it was found that the material collected for research is of key importance in concluding about the role of miR in the PEX etiopathogenesis. The expression of miR should be examined by taking aqueous humor, blood and the lens capsule to assess the relationship between profiles between the expression of individual miRs.

MicroRNAs, which are a powerful modulator of cell activity, give hope for effective diagnostic and therapeutic strategies for PEX. More research is needed to determine the role of miR in PEX.