

**Uniwersytet Medyczny w Łodzi**

Wydział Nauk o Zdrowiu

Magdalena Cybula

**Podłoże molekularne rozwoju raka krtani na podstawie  
analizy ekspresji wybranych genów**

Rozprawa doktorska

Praca wykonana w Zakładzie Biochemii Medycznej

Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Promotor pracy: dr hab. n. med. prof. zw. Janusz Szemraj

**Łódź 2016**

## Streszczenie

Rak krtani jest jednym z najczęściej występujących nowotworów regionu głowy i szyi. Pomimo intensywnych badań nad wprowadzeniem nowych technik diagnostycznych i ulepszeniem strategii leczenia tego nowotworu, przeżywalność pacjentów uległa niewielkiej poprawie. Znaczna część guzów wykrywana jest późno a stosowana terapia nie zawsze przynosi pożądane efekty. Duże nadzieje wiązane są z analizą miRNA, których profil ekspresji jest odmienny w różnych nowotworach i wydaje się lepiej klasyfikować różne ich typy w porównaniu z genami strukturalnymi. miRNA wydają się być również dobrym celem terapii przeciwnowotworowej.

Celem prezentowanej pracy była analiza ekspresji 5 genów strukturalnych zaangażowanych w proces nowotworowy: *PIK3R1*, *CXCR4*, *FZD4*, *HACE1* i *CRK* oraz 5 miRNA: miR-21-3p, miR-139-3p, miR-377-5p, miR-525-5p i miR-885-5p. Badanie ekspresji przeprowadzono stosując technikę łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-PCR). Materiał do badań stanowiła tkanka pobrana od 47 pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem krtani. Jako materiał kontrolny wykorzystano tkankę prawidłową pochodzącą od tego samego pacjenta. Dodatkowo analizowano zależność pomiędzy względnymi poziomami ekspresji genów strukturalnych i miRNA a także zależność ich ekspresji z danymi kliniczno-patologicznymi takimi jak stopień zaawansowania klinicznego, stopień zróżnicowania tkanki guza, obecność przerzutów do węzłów chłonnych, wielkość guza, wiek i płeć pacjentów.

W niniejszej pracy wykazano, że miR-21-3p oraz miR-525-5p ulegają nadekspresji w raku krtani i mogą pełnić funkcję onkogenów w tym typie nowotworu. W przypadku miR-139-3p i miR-885-5p zaobserwowano spadek ekspresji co wskazuje na pełnienie funkcji genów supresorowych w raku krtani. Nie stwierdzono różnic w ekspresji miR-377-5p między tkanką nowotworową a prawidłową oraz korelacji względnego poziomu ekspresji wszystkich badanych miRNA z danymi kliniczno-patologicznymi. Z drugiej strony geny *PIK3R1* i *HACE1* wykazały znaczne obniżenie ekspresji, podczas gdy poziom ekspresji *CXCR4*, *FZD4* oraz *CRK* nie różnił się między tkanką nowotworową a kontrolną. Nie stwierdzono również występowania zależności między parametrami kliniczno-patologicznymi a ekspresją mRNA genów strukturalnych. W niniejszej pracy wykazano korelację między ekspresją miRNA, które według danych z baz TargetScan, DIANA Lab i miRanda, posiadają ten sam gen docelowy co może wskazywać na ich synergistyczne działanie w regulacji ekspresji. W żadnym przypadku nie stwierdzono jednak zależności między ekspresją miRNA a potencjalnym genem docelowym. W prezentowanej pracy wykazano, że analiza ekspresji genu *PIK3R1* oraz miR-885-5p może z dużą skutecznością klasyfikować tkankę

nowotworową i prawidłową co może zostać wykorzystane przy badaniu marginesów po zabiegu chirurgicznym.

Wyniki prezentowanej pracy pokazują, że zmiany ekspresji miRNA w raku krtani są częstsze niż w przypadku genów strukturalnych. Ekspresja rzadziej badanych w nowotworach nici komplementarnych takich jak miR-21-3p i miR-139-3p, również ulega istotnym zmianom w tym typie nowotworu. *PIK3R1*, *HACE1*, miR-139-3p oraz miR-885-5p mogą pełnić funkcję genów supresorowych w badanym typie nowotworu, podczas gdy miR-21-3p i miR-525-5p wydają się posiadać właściwości onkogenów.