

Wpływ makrofagów na profil ekspresji miRNA w fibroblastach *endometrium* klaczy

Endometrosis charakteryzuje się **włóknieniem zrębu łącznotkankowego *endometrium*** i prowadzi do niepłodności u klaczy. Patogeneza endometrosis wciąż pozostaje niejasna. W przebiegu włóknienia dochodzi od nadmiernego odkładania składników macierzy pozakomórkowej (ECM), aktywacji fibroblastów oraz miofibroblastów. Uważa się, że występowanie włóknienia ma związek z przewlekłym stanem zapalnym, podczas którego komórki zapalne uwalniają cytokiny profibrotyczne i inne czynniki, które w sposób parakrynnny oddziałują na otaczającą tkankę.

Makrofagi (M ϕ) są głównymi komórkami układu odpornościowego, które fagocytują patogeny. Polaryzacja M ϕ s to proces, w którym M ϕ s różnicują się w odmienne fenotypy funkcjonalne w wyniku określonych bodźców i sygnałów z mikrośrodowiska. Makrofagi są wysoce plastycznymi komórkami efektorowymi z odmiennymi cechami fenotypowymi i można je podzielić na dwie główne populacje: aktywowane klasycznie M ϕ 1 lub aktywowane alternatywnie M ϕ 2. Wyniki badań sugerują, że M ϕ 1 i M ϕ 2a odgrywają rolę w rozwoju włóknienia, a nasze wyniki sugerują, że M ϕ s uczestniczą w procesach związanych z rozwojem endometrosis u klaczy.

MikroRNA (miRNA) to krótkie niekodujące RNA (~ 22 nt), które regulują ekspresję genów na poziomie translacji. miRNA poprzez regulację ekspresji genów docelowych regulują zachodzące w organizmie procesy fizjologiczne, ale także patologiczne, takie jak włóknienie tkanek. W naszych badaniach wykazaliśmy, że profil ekspresji miRNA w *endometrium* klaczy różni się na poszczególnych etapach rozwoju endometrosis. Wyniki te sugerują, że miRNAs poprzez regulację ekspresji wybranych genów mogą uczestniczyć w rozwoju endometrosis u klaczy. Ekspresja miRNA jest wysoce dynamiczna i zmienia się w odpowiedzi na cytokiny. Wyniki badań pokazują również, że istnieje wzajemna zależność między miRNA a mediatorami stanu zapalnego wydzielanymi przez komórki odpornościowe. Nie ma jednak badań dotyczących wpływu mediatorów wydzielanych przez M ϕ s na profil ekspresji miRNA w fibroblastach *endometrium* klaczy. W ramach projektu zbadamy wpływ czynników parakrynnnych wydzielanych przez M ϕ 1 i M ϕ 2a na profil ekspresji miRNA w fibroblastach *endometrium* klaczy.

W ramach naszych badań postawiliśmy hipotezę, że (1) czynniki parakrynnne wydzielane przez aktywowane populacje M ϕ 1 i M ϕ 2a indukują zmiany w profilu ekspresji miRNA w fibroblastach *endometrium* klaczy (2), a ich działanie różni się między populacją M ϕ 1 i M ϕ 2a w związku z odmiennym profilem uwalnianych mediatorów. Projekt ten ma na celu zbadanie wpływu różnych populacji M ϕ s na profil ekspresji miRNA w fibroblastach *endometrium* klaczy w procesach związanych z rozwojem endometrosis. W proponowanym projekcie fibroblasty pochodzące z *endometrium* klaczy z łagodnym włóknieniem będą hodowane w pożywce po hodowli makrofagów zróżnicowanych z monocytów izolowanych z krwi obwodowej klaczy w warunkach *in vitro*. **Naszym pierwszym celem** będzie określenie wpływu mediatorów uwalnianych przez M ϕ 1 i M ϕ 2a na profil ekspresji miRNA w fibroblastach *endometrium* za pomocą RNA-seq, a następnie weryfikacja wyników przez użycie metody qPCR i miRNA-FISH. Ponadto przeprowadzimy analizę *in silico* potencjalnych procesów molekularnych, w których biorą udział geny regulowane przez miRNA w mechanizmach związanych z rozwojem endometrosis klaczy. **W drugim celu** określimy parakrynnne czynniki uwalniane przez M ϕ 1 i M ϕ 2a odpowiedzialne za zmiany ekspresji miRNA w fibroblastach *endometrium* klaczy. W tym celu wybierzemy cytokiny o najwyższym stężeniu wytwarzane przez M ϕ 1 i M ϕ 2a, a następnie je zneutralizujemy. Następnie zostanie określona ekspresja wybranych miRNA w fibroblastach *endometrium* przy użyciu metody qPCR i miRNA-FISH.

W ramach projektu poszerzymy wiedzę na temat wpływu czynników uwalnianych przez M ϕ 1 i M ϕ 2a na ekspresję miRNA regulujących ekspresję genów w procesach związanych z rozwojem włóknienia. Może to stać się narzędziem dla innych badaczy do badania tego procesu we włóknieniu *endometrium* i innych narządów oraz innych gatunków, co może prowadzić do lepszego zrozumienia rozwoju włóknienia. Dodatkowo biorąc pod uwagę, że zaplanowane analizy dostarczą dużej ilości metadanych, które mogą wyznaczyć kierunek naszych przyszłych badań.