



DOCTORATS  
INDUSTRIALS

EL PLA DE  
DOCTORATS  
INDUSTRIALS

## PROJECTE DE DOCTORAT INDUSTRIAL EXPEDIENT 2015 DI 074

### DADES DE L'EMPRESA I DE L'ENTORN ACADÈMIC

#### Títol del projecte

Understanding the role of LGR5 in endometriosis

#### Empresa

IVI Barcelona S.L.

#### Responsable de l'empresa

Xavier Santamaria Costa

#### Universitat o Centre de Recerca

Universitat Autònoma de Barcelona / Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR)

#### Director/a de tesi

Antonio Gil Moreno

#### Treballador/a de l'empresa i doctorand/a

Júlia Vallvé Juanico

### BREU DESCRIPCIÓ DEL PROJECTE DE RECERCA

L'endometriosis és una malaltia ginecològica crònica estrogon dependent que afecta aproximadament a un 15% de les dones en edat fèrtil. Es caracteritza pel creixement d'endometri fora de l'úter. Els símptomes més comuns són dolor pèlvic i infertilitat. No es coneix l'origen de la malaltia i no hi ha diagnòstic tret del quirúrgic, el que suposa un gran problema.

En un estudi anterior, Santamaria X et al (Endocrinology, 2012), es va demostrar, mitjançant un model murí d'endometriosis experimental, que algunes cèl·lules eren capaces de migrar selectivament de les lesions endometriòsiques cap a l'úter. El model consistia en implantar cèl·lules de l'endometri de ratolins transgènics GFP dins el peritoneu de ratolins transgènics RFP. Al cap de tres mesos, es van sacrificar i es van analitzar diferents teixits dels ratolins RFP i es va veure que les cèl·lules GFP positives (GFP+) migraven selectivament des de les lesions peritoneals a l'úter. Es va analitzar la seva expressió gènica per arrays. Hi havia més de 28 vies significativament diferenciades entre les cèl·lules que havien migrat des de la lesió i les de l'endometri eutòpic. A més a més, es va estudiar la co-localització de les cèl·lules GFP+ per immunofluorescència (IF) amb marcadors epitelials, (citokeratines (CK)), marcadors de cèl·lules mare (Wnt7a) i marcadors de leucòcits (CD45). En els dos primers casos hi havia co-localització i no en l'últim, el que indicava que les cèl·lules que havien migrat expressaven marcadors epitelials i marcadors de cèl·lules mare però no eren leucòcits. Les cèl·lules es trobaven al compartiment estromal, no a l'epitelial, però, en canvi, expressaven CK (marcador epitelial). A més a més, aquestes cèl·lules es trobaven a prop de vasos sanguinis, el que fa



Generalitat de Catalunya  
Departament d'Empresa i Coneixement  
Secretaria d'Universitats i Recerca



Agència  
de Gestió  
d'Ajuts  
Universitaris  
i de Recerca



DOCTORATS  
INDUSTRIALS

## EL PLA DE DOCTORATS INDUSTRIALS

pensar que probablement migressin a través de la circulació sanguínia i possiblement patissin un procés de EMT.

Als arrays es va observar que el gen LGR5 (Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5), descrit com a marcador de cèl·lules mare, estava sobre-expressat. És per tot això que s'hipotetitzava que potser les cèl·lules capaces de migrar són cèl·lules mare i podrien contribuir al desenvolupament de la malaltia mitjançant travessament sanguini o limfàtic. Com que LGR5 és un marcador de cèl·lules mare que es troba a la membrana, pensem que és un bon candidat per a poder separar aquest tipus de cèl·lules en aquest estudi. La caracterització del paper de LGR5 en la endometriosis, així com determinar el seu valor com a marcador seran la base d'aquesta tesi. Així doncs, hi ha dos objectius principals en aquest estudi:

1. Determinar la importància del receptor de cèl·lules mare LGR5 en l'endometri eutòpic i ectòpic de dones amb endometriosis i donants sanes:

Per a dur a terme aquest objectiu s'estudiarà la presència del receptor en endometris eutòpics d'humanes i la seva co-localització amb diferents marcadors per a conèixer l'origen de les cèl·lules.

2. Desenvolupar un kit diagnòstic i pronòstic a partir de les diferències d'expressió gènica entre cèl·lules LGR5 positives i negatives provinents d'aspirats uterins que permeti discriminar entre els diferents tipus d'endometriosis:

Per a dur a terme aquest objectiu, es recolliran aspirats uterins (i la lesió en el cas de les pacients malaltes) i es processaran les mostres per a fer immunocitoquímica amb un anticòs anti-LGR5 per a poder separar-les per citometria. Les cèl·lules es recolliran en trizol (un còctel d'inhibidor de RNAses) per a la posterior extracció de RNA. Un cop es valori la qualitat de l'RNA, es farà un estudi pilot d'expressió gènica amb una n=3/4 de cada tipus d'endometriosis i donants sanes. Es farà High-Sequencing per a esbrinar l'expressió gènica de les pacients. Després s'analitzarà la significància estadística dels resultats per a obtenir els candidats.

En una segona fase del projecte, es validaran els resultats obtinguts de la primera fase de manera interna (amb Nanostring) a partir de mostres de parafina i després es farà una validació externa augmentant la mida mostral per a poder finalment dissenyar el kit diagnòstic.

Les mostres de les pacients que pateixen endometriosis seran cedides per l'Hospital Vall d'Hebron i els aspirats uterins de donants sanes seran cedides per l'empresa IVI Barcelona S.L. Tot el treball d'investigació a realitzar es durà a terme al laboratori del grup de recerca biomèdica en ginecologia de la Vall d'Hebron donat que IVI Barcelona no disposa d'instal·lacions per a l'investigació.

Tot el treball ha estat aprovat pel Comitè ètic de Vall d'Hebron i IVI Barcelona.