

Pierwotna łóciowa marskość w troby (PBC) jest nieuleczalną, wolno postępującą, autoimmunologiczną chorobą w troby, w której dochodzi do zablokowania przepływu żółci, co medycyna określa mianem cholestazy. Zaleganie żółci w w trobie prowadzi do nieodwracalnego uszkodzenia komórek tego narządu, tworzenia zwłóknienia, które zastępuje zdrowe tkanki, czego konsekwencją jest marskość w troby. W efekcie w trobie przestaje spełniać swoje fizjologiczne funkcje i konieczny jest jej przeszczep. W patologii choroby PBC, cholestazie towarzyszy przewlekły stan zapalny, co przejawia się obecnością specyficznych autoanticyprów w surowicy pacjentów. PBC dotyka przede wszystkim kobiety w średnim wieku. Dokładna etiologia choroby nie jest znana, chociaż powszechnie uważa się, że może być ona związana z zaburzeniem odpowiedzi immunologicznej. **Chcemy dostarczyć więcej informacji na temat funkcjonowania układu odpornościowego w patogenezie choroby PBC, postanowiliśmy skupić swoją uwagę na jego epigenetycznej regulacji przez czynniki określone mianem microRNA (miRNA).**

miRNA należą do małych, niekodujących czynniki RNA. Ich główną funkcją w organizmie jest negatywna potranskrypcyjna regulacja ekspresji genów przez wiązanie się z mRNA białka docelowego, czego wynikiem jest zahamowanie procesu translacji tego białka. Z uwagi na wysoką stabilność miRNA we krwi, w medycynie czynniki te znalazły swoje zastosowanie, jako biomarkery do wczesnego wykrywania chorób, jak również jako nośniki informacji o przebiegu choroby. Coraz więcej jest doniesień na temat roli miRNA w chorobach autoimmunologicznych. Wiadomo, że czynniki te wywierają wpływ na rozwój komórek układu odpornościowego i są czynnikiem regulującym jego homeostaz. **Biorąc pod uwagę powyższe informacje, w niniejszym projekcie zamierzamy zidentyfikować mikroRNA, które regulują odpowiedź immunologiczną u pacjentów dotkniętych PBC. Przeprowadzone badania pozwolą nam zdobyć wiedzę na temat etiologii choroby, a w przyszłości mogą przyczynić się do postępów w leczeniu chorych na PBC.**

Wstępne wyniki badań przeprowadzonych w naszym laboratorium, pozwoliły nam przeanalizować profil ekspresji miRNA w trobie u pacjentów z PBC. Potwierdziły one zmienioną ekspresję kilku miRNA, które w literaturze są opisane, jako istotne czynniki w regulacji odpowiedzi immunologicznej. Spośród wytypowanych miRNA, wybraliśmy cztery, kluczowe w procesie dojrzewania i różnicowania limfocytów, produkcji cytokin prozapalnych i chemokin. Badane miRNA, mogą być cennym markerem zmian charakterystycznych dla odpowiedzi immunologicznej w PBC.

Dzięki współpracy z jednostką Hepatologii i Chorób Wewnętrznych Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, badania realizowane w niniejszym projekcie zostaną przeprowadzone na materiale pochodzącym od ponad 300 chorych na PBC. W pierwszym etapie, planujemy przeprowadzić szczegółową analizę wybranych miRNA w surowicach, w określonych subpopulacjach komórek jednej drzazgi krwi obwodowej (PBMC) i w tkankach pochodzących z przeszczepionych w tróby. Analiza ta zostanie rozszerzona o dodatkowe informacje dotyczące poziomu cytokin i czynnika TGF β w surowicy pacjentów z PBC. Poziom cytokin i TGF β u chorych niesie ze sobą informacje dotyczące aktywności układu odpornościowego, gdy są one bezpośrednio zaangażowane w rozwój chorób autoimmunologicznych. Chcemy zrozumieć rolę interakcji pomiędzy miRNA i przewlekłym stanem zapalnym w PBC, określony stopień korelacji między poziomem cytokin, TGF β a stopniem ekspresji mikroRNA. W analizie zostaną również uwzględnione dokładne dane kliniczne pacjentów, tak aby możliwym było dokładne ocena stopnia zaawansowania choroby.

W kolejnym etapie naszych badań, zamierzamy sprawdzić, czy istnieje związek pomiędzy poziomem badanych miRNA a poziomem białek, których ekspresja jest przez te czynniki potranskrypcyjnie regulowana. Analiza zostanie przeprowadzona z wykorzystaniem tkanki pochodzącej z przeszczepionych w tróby oraz z wykorzystaniem wyizolowanych komórek PBMC. Oceniane białka zaliczane są do czynników immunomodulujących a zatem ich nieodpowiedni poziom może warunkować autoimmunologiczne podłoże PBC.

Na koniec, chcemy zidentyfikować przyczynę nieprawidłowego funkcjonowania układu odpornościowego w rozwoju choroby PBC zamierzamy zidentyfikować mechanizm, który prowadzi do zmian ekspresji miRNA u pacjentów. Patogenezie PBC towarzyszy uwalnianie tlenku azotu (NO) przez enzym syntaz tlenku azotu (iNOS). Tlenek azotu zaliczany jest do mediatorów stanu zapalnego, który wpływa na ekspresję wielu genów w tym na ekspresję czynniki miRNA. W związku z tym zbadamy wpływ tlenku azotu na poziom interesujących nas miRNA, w komórkach linii HepG2 oraz w cholangiocytych.

Poznanie etiologii choroby PBC ciągle pozostaje wyzwaniem. Brak dostatecznej wiedzy jest powodem, dla którego leczenie PBC prowadzi jedynie do spowolnienia progresji choroby a nie zatrzymania jej rozwoju. W niniejszym projekcie chcemy lepiej zrozumieć patogenezę PBC, koncentrując się na epigenetycznej modulacji układu odpornościowego przez czynniki miRNA. Materiał badawczy uzyskany od dużej liczby pacjentów pozwoli na odkrycie istotnych zależności między ekspresją miRNA a odpowiedzią immunologiczną w trakcie rozwoju PBC. **Spodziewane rezultaty pozwolą zdobyć wiedzę, która w przyszłości zostanie wykorzystana w badaniach klinicznych.**