

Wielopoziomowe badanie molekularne na podstawie laserowej mikrodysekcji rogówek w celu identyfikacji biomarkerów i celów terapeutycznych w stożku rogówki

Stożek rogówki (*ang.* Keratoconus, KTCN) jest chorobą oka powodującą zmianę kształtu rogówki z kulistego na stożkowy oraz tworzenie patologicznego „stożka”. U pacjentów występują zaburzenia widzenia, ponieważ rogówka ze stożkiem nie spełnia swojej funkcji. KTCN jest często rozpoznawanym zaburzeniem i odnotowywane jest we wszystkich grupach etnicznych, z takim samym prawdopodobieństwem wystąpienia u mężczyzn i kobiet. Jest to złożona choroba, w której zarówno czynniki środowiskowe, jak i genetyczne wpływają na pojawienie się tego schorzenia. Przyczyny choroby oraz łańcuch zdarzeń/kolejnych zmian patologicznych mających miejsce w jej przebiegu pozostają niewyjaśnione.

Rogówka, pomimo swych niewielkich rozmiarów, składa się z kilku warstw. W świetle rozwoju nowych technik laboratoryjnych konieczne jest zbadanie tych warstw osobno, a nie tylko razem, jak dotychczas. Chcemy podjąć się tego zadania jako pierwsi, bazując na podziale na warstwy rogówek od pacjentów ze stożkiem, aby znaleźć zmiany na poziomie molekularnym w poszczególnych warstwach rogówki. Dopiero wówczas będziemy mogli dowiedzieć się więcej o mechanizmach choroby.

Zakładamy, że związane z chorobą zmiany morfologiczne obserwowane w poszczególnych częściach rogówki, jak również jej struktura i kształt w przebiegu KTCN są skorelowane z poziomem ekspresji dotychczas niezidentyfikowanych/niepotwierdzonych genów oraz całych szlaków sygnałowych.

Celem tego projektu jest dogłębne zbadanie warstw ludzkiej zdrowej rogówki i rogówki KTCN z zamiarem identyfikacji czynników biologicznych zaangażowanych w patologiczny proces powstawania stożka KTCN oraz rozwój choroby. Cel zostanie zrealizowany poprzez szczegółowe badanie morfologiczne i charakterystykę molekularną rogówki w przebiegu KTCN. Takie badania to ważny krok w kierunku udoskonalenia schematów diagnostycznych i schematów leczenia pacjentów. Uzyskane wyniki będą skutkować wzrostem wiedzy na temat patogenezy KTCN i dostarczą ważnych informacji odnośnie etiologii KTCN.

Przebadamy rogówki od pacjentów skierowanych do przeszczepu tego narządu z powodu zaawansowanego stanu choroby. Każda rogówka zostanie pocięta na cztery oddzielne warstwy, a także podzielona na zaprojektowane przez nas trzy obszary/regiony topograficzne. Regiony te będą stanowiły kolejne okręgi rozchodzące się od wierzchołka stożka, tj. od miejsca najbardziej zmienionego klinicznie. W ten sposób będziemy mogli sprawdzić jak zmienia się ekspresja genów w korelacji z fenotypem choroby w odniesieniu do wyników rozpoznania białek i metabolitów charakterystycznych dla KTCN w poszczególnych warstwach rogówki. Aspekty te będziemy badać w porównaniu do rogówek pochodzących od zdrowych nieżyjących dawców, które uzyskamy z banku tkanek. W badaniach użyjemy następujące techniki badawcze: laserową mikrodysekcję, sekwencjonowanie RNA, sekwencjonowanie całego egzomu, różne techniki analizy białek i metabolitów. Uzyskane dane odpowiedzą na pytania, czy i w jaki sposób ekspresja, profile DNA i RNA oraz proteomiczne i metabolomiczne, różnią się między osobami zdrowymi, a pacjentami ze stożkiem rogówki. Planujemy rozpoznać wyznaczniki choroby, tzw. biomarkery, które mogą znaleźć zastosowanie w diagnostyce medycznej, jak również ustalić potencjalne cele terapeutyczne w stożku rogówki.