

Stożek rogówki (ang. *keratoconus*, KTCN), to choroba oczu charakteryzująca się postępującym ścięciem rogówki i jej specyficznym wypukleniem. Nieprawidłowości strukturalne w poszczególnych warstwach rogówki powodują zmiany refrakcji i znaczne pogorszenie widzenia. Częstość występowania KTCN wynosi od 1/375 do 1/2000 osób w populacji ogólnej. Pierwsze objawy KTCN pojawiają się zwykle w drugiej lub na początku trzeciej dekady życia. Postępowanie terapeutyczne w KTCN zależy od stopnia zaawansowania choroby i obejmuje korekcję wzroku za pomocą soczewek kontaktowych, zabieg sieciowania kolagenu rogówki (CXL) lub przeszczep rogówki. Na rozwój choroby wpływają czynniki środowiskowe, takie jak pocieranie oczu lub noszenie soczewek kontaktowych. Ważną rolę w KTCN odgrywają również czynniki genetyczne.

Uważa się, że rolę w patogenezie KTCN odgrywają zmiany w licznych genach, umiejscowionych w różnych regionach genomu człowieka. Ponieważ żaden z rozpoznanych genów nie jest odpowiedzialny za KTCN w populacji światowej, stawiamy hipotezę, że dodatkowe elementy, zwłaszcza te występujące w regionach regulatorowych genomu, kontrolujących działanie genów, mogą wpływać na powstanie i rozwój choroby. Celem niniejszego projektu jest ocena wpływu zmian w dostępności chromatyny i rozpoznanych nieprawidłowości w regionach regulatorowych genów na patogenę i rozwój KTCN.

Badania zostaną przeprowadzone z wykorzystaniem rogówek pozyskanych podczas operacji przeszczepu rogówki od 20 pacjentów z KTCN oraz 20 rogówek od zmarłych osób, pozyskanych z banku tkanek. Tkanki zostaną ocenione pod względem morfologicznym w celu rozpoznania zmienionych obszarów rogówki. Z rogówek zostaną przygotowane jądra komórkowe, DNA oraz kriosekcje (zamrożone fragmenty tkanek), które będą wykorzystane w badaniach obejmujących analizy całogenomowe (DNA), transkryptomyczne (RNA), proteomu (białek) i układu nukleosomów (chromatyna). Aby zdefiniować rolę niezbadanych dotąd elementów w skali całego genomu, planujemy zastosować najnowocześniejsze metody biologii molekularnej: ocenę dostępności chromatyny poprzez sekwencjonowanie o dużej przepustowości (ATAC-Seq), sekwencjonowanie całego genomu (WGS), transkryptomikę przestrzenną i profilowania białkowe.

Za pomocą ATAC-seq wykryjemy otwarte regiony chromatyny, w których czynniki transkrypcyjne mogą wiązać się i regulować ekspresję genów, w różnych topograficznych regionach rogówki. WGS pozwoli zidentyfikować zmiany w sekwencji DNA charakterystyczne dla KTCN. Z wykorzystaniem transkryptomiki przestrzennej wskażemy głównie na zróżnicowaną ekspresję genów i ich interakcje w szlakach molekularnych, biorąc pod uwagę warstwy i regiony rogówki. Wybrane warianty, wykryte w oparciu o wyżej wymienione metody badawcze, będą dalej analizowane w tzw. testach reporterowych, które pozwolą scharakteryzować ich potencjalną funkcję w genomie.

Realizacja projektu umożliwi zrozumienie roli zmienności genetycznej całego genomu, a szczególnie zmienności w obrębie regionów regulatorowych, w celu dalszego wyjaśnienia czynników istotnych w patogenezie KTCN. Wyniki projektu mogą stanowić podstawę przyszłych strategii leczenia KTCN.