

Endometrioza jest wyniszczającą chorobą ginekologiczną, definiowaną jako obecność komórek endometrium w nieprawidłowej lub ektopowej lokalizacji poza jamą macicy. Najczęściej dotknięte miejsca to otrzewna miednicy, jajniki, więzadła maciczno-krzyżowe i przegroda odbytniczo-pochwowa. Nieprawidłowa tkanka reaguje na stymulację hormonalną, podlega cyklicznemu wzrostowi i złuszczeniu się podobnie jak odpowiednio zlokalizowana tkanka endometrium w macicy. Typowe objawy endometriozy to: bolesne miesiączki i owulacja, silne skurcze miednicy, obfite krwawienie, ból podczas seksu, oddawaniu moczu i bóle jelit, krwawienie i ból między miesiączkami. Endometrioza występuje u około 10–15% kobiet w wieku rozrodczym, u 20–50% kobiet z niepłodnością i 71–87% kobiet z przewlekłym bólem miednicy. Na diagnozę kobiety czekają średnio 8–10 lat. Podstawową metodą rozpoznawania endometriozy jest laparoscopia (zwana złotym standardem), polegająca na wycięciu zmian endometrialnych. W leczeniu objawowej endometriozy stosuje się hormonoterapię i leki przeciwbólowe, jednak endometrioza często powraca. Dlatego ważne jest kompleksowe i zindywidualizowane podejście do pacjentki oraz znalezienie nieinwazyjnego markera diagnostycznego choroby. Zaproponowano wiele teorii wyjaśniających patogenezę endometriozy. Za najbardziej akceptowaną uważa się teorię Sampsona dotyczącą wstecznej miesiączki. Teoria ta zakłada, że endometrioza występuje z powodu wstecznego przepływu komórek endometrium przez jajowody podczas menstruacji. Jednak wykazano, że proces ten zachodzi u 90% kobiet, podczas gdy endometriozę rozpoznaje się tylko u 10% z nich. Oznacza to, że musi istnieć mechanizm, który blokuje układ odpornościowy kobiety przed usuwaniem komórek endometrium, zaburza jego funkcję, prowadząc do zagnieżdżenia się ektopowego endometrium i powstania zmian. Celem tego projektu jest zbadanie roli polimorfizmów genów i ich produktów białkowych zaangażowanych w tzw.: „procesowanie” antygeny HLA klasy I - ERAP1, ERAP2, LNPEP, TAP1, TAP2, LMP2, LMP7, LMP10 i tapazyny w endometriozie. Być może polimorfizm proponowanych genów wpływających na ekspresję białek, ich aktywność i swoistość substratową może mieć związek z predyspozycją do endometriozy i jej ciężkością. Allele HLA klasy I będziemy badać na poziomie wysokiej rozdzielczości metodą NGS. Planujemy również zbadać wybrane mikroRNA jako negatywne regulatory ekspresji proponowanych cząsteczek, jak i status metylacji promotora wybranych genów. Przebadamy 500 pacjentek z endometriozą i 600 kobiet kontrolnych bez endometriozy. Ponadto, metodami immunohistochemicznymi będziemy badać ekspresję tych białek i HLA klasy I w tkankach dotkniętych ektopowym endometrium, a także ekspresję odpowiednich miRNA metodą Real-Time PCR. Niemożność tworzenia prawidłowych kompleksów HLA klasy I z odpowiednimi peptydami może skutkować brakiem odpowiedzi immunologicznej komórek CD8 + i NK, przyczyniając się do implantacji ektopowego endometrium i rozwoju endometriozy. Jak dotąd w bazie PubMed nie ma badań o roli polimorfizmu genetycznego i ekspresji białek z tzw. „maszynarii obróbki antygeny” w tkankach z ektopowym endometrium. Ponieważ istnieją badania potwierdzające złuszczenie z powierzchni komórek prozapalnych receptorów cytokin, takich jak TNFR α przez ERAP, chcemy również sprawdzić, jak poziom tych aminopeptydaz wpłynie na status pro- i przeciwzapalny pacjentek z endometriozą. Zbadamy poziom ERAP1, ERAP2 i LNPEP oraz profil pro- i przeciwzapalny w osoczu pacjentek i płynie otrzewnowym. Stężenie aminopeptydaz będzie badane metodą ELISA, natomiast poziom cytokin pro- i przeciwzapalnych poprzez badanie wielu cytokin naraz na aparacie Luminex. W następnym etapie badań określimy ekspresję HLA klasy I na komórkach CD8 + i NK we krwi obwodowej (metodą cytometrii przepływowej), aby sprawdzić, czy ekspresja HLA klasy I jest zmieniona u pacjentek w porównaniu ze zdrowymi kobietami. Chcemy również pogłębić analizę polimorfizmów genu HLA-G w 3'UTR (metodą sekwencjonowania), które mogą wpływać na wiązanie miRNA, prowadząc do zwiększonej degradacji mRNA i zmniejszonej produkcji HLA-G. Dlatego zbadamy również poziom rozpuszczalnej cząsteczki HLA-G w osoczu pacjentek oraz w płynie otrzewnowym. Być może nasze badania przyczynią się do zrozumienia mechanizmów związanych z rozwojem endometriozy, a tym samym pomogą w leczeniu tych pacjentek. Zastosowanie inhibitorów ERAP wydaje się być obiecującą metodą leczenia w przypadku stwierdzenia nadekspresji tych białek. W końcowym etapie projektu planujemy stworzenie algorytmu przewidującego (na podstawie wyselekcjonowanych immunologicznych czynników genetycznych i białkowych) u pacjentek czy rozwinie ona postać łagodną czy zaawansowaną choroby. Algorytm ten powstanie z użyciem metod sztucznej inteligencji i uczenia maszynowego.