

Endometrioza to zagadkowa choroba, polegająca na obecności i rozroście tkanki podobnej do wyścielającej macicę poza jej naturalnym miejscem, głównie w jamie otrzewnej, ale może też pojawiać się w odległych częściach ciała takich jak mózg, płuca, opłucna, a nawet nos. Dotyczy około 10% kobiet w wieku rozrodczym, co oznacza ponad 190 milionów kobiet na całym świecie. Chorobie towarzyszy przewlekły stan zapalny, silny ból podbrzusza i obniżona płodność. Jej objawy mają wpływ nie tylko na ogólny stan zdrowia kobiet, ale także powodują duże obciążenie finansowe dla systemów opieki zdrowotnej, porównywalne z innymi chorobami przewlekłymi. Mimo, że endometrioza jest tak powszechna, mechanizmy jej powstawania wciąż nie są dobrze poznane, głównie z powodu braku odpowiednich modeli do badań. Obiecującym rozwiązaniem są nowoczesne trójwymiarowe (3D) modele chorób *in vitro*, ponieważ lepiej odzwierciedlają strukturę tkanek i rzeczywiste reakcje komórek na leczenie niż tradycyjne hodowle komórkowe.

Badacze coraz częściej podkreślają, że jednym z kluczowych problemów w leczeniu endometriozy jest oporność na progesteron, przez którą standardowe terapie hormonalne bywają nieskuteczne. Nową testowaną grupą leków są tzw. selektywne modulatory receptora progesteronowego (SPRMs), jednak również one nie zawsze przynoszą poprawę. Dlatego coraz większe zainteresowanie budzą naturalne związki roślinne. Fitoprogestageny, niesteroidowe odpowiedniki SPRMs, to obiecująca, choć wciąż mało poznana alternatywa w leczeniu chorób zależnych od hormonów, takich jak endometrioza.

Celem projektu jest zbadanie czy wybrane flawonoidy, przedstawiciele fitoprogestagenów: kempferol, apigenina i naryngenina mogą wspierać zapobieganie i leczenie endometriozy z wykorzystaniem funkcjonalnego i scharakteryzowanego 3D modelu *in vitro* choroby. Zakres prac badawczych obejmuje trzy główne etapy:

- 1) **Opracowanie nowoczesnego 3D modelu *in vitro* choroby** (tzw. sferoidów), który jak najwierniej odzwierciedla zmiany zachodzące w tkankach przy endometriozie. Model będzie analizowany pod względem morfologii, metabolizmu i ekspresji genów, w tym markerów charakterystycznych dla endometriozy.
- 2) **Ocenę wpływu substancji roślinnych - fitoprogestagenów na przemiany progesteronu i procesy hormonalne (steroidogenezę) w opracowanym 3D modelu *in vitro* endometriozy.**
- 3) **Badanie wpływu fitoprogestagenów na kluczowe procesy w komórkowe** w powstawaniu i rozwoju choroby: nadmierne namnażanie (prolifracja), zaprogramowana śmierć (apoptoza), reakcje zapalne oraz zdolność do tworzenia przerzutów.

Projekt rozpocznie się od stworzenia modelu 3D endometriozy w warunkach *in vitro*, przy użyciu systemu, który sprzyja powstawaniu sferoidów i naturalnych interakcji między komórkami. Model ten będzie analizowany pod względem morfologii za pomocą mikroskopii oraz metabolizmu i ekspresji genów, charakterystycznych dla endometriozy. Następnie oceniony zostanie wpływ fitoprogestagenów na biosyntezę progesteronu poprzez analizę genów i białek metodami qRT-PCR, Western blotting i ELISA. Dodatkowo zastosowana zostanie analiza RNA-seq, aby określić zmiany w ekspresji genów po ekspozycji sferoidów na badane związki. W końcowej fazie projektu sprawdzony zostanie wpływ fitoprogestagenów na kluczowe procesy komórkowe, takie jak proliferacja, apoptoza, stan zapalny i przerzuty. W tym celu wykorzystane będą zaawansowane techniki molekularne i cytometrii przepływowej z bioobrazowaniem.

Realizacja projektu pozwoli ukazać odkrycia związane z niescharakteryzowanymi mechanizmami działania fitoprogestagenów na endometriozę, z identyfikacją specyficznych genów i białek oraz określonych zdarzeń komórkowych, molekularnych i hormonalnych modulowanych przez te związki. Wyniki mogą dostarczyć nowej, podstawowej wiedzy dla rozwoju naturalnych, długoterminowych strategii dietoterapeutycznych w endometriozie. Dodatkowo, opracowany 3D model *in vitro* może stać się skutecznym, nowoczesnym i etycznym narzędziem badawczym, pozwalającym na ocenę rzeczywistych efektów terapeutycznych bioaktywnych związków bez konieczności testów na zwierzętach.