

„Eksperymentalna terapia komórkowa choroby Huntingtona z wykorzystaniem technologii iPSC”

Wojciech Szlachcic

Stypendysta projektu pt. „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Choroba Huntingtona jest nieuleczalną, dziedziczną w sposób dominujący chorobą neurodegeneracyjną z grupy chorób poliglutaminowych o częstości występowania ok. 1 na 15 tys. osób. Objawy pojawiają się najczęściej po 35 roku życia, ale może zostać wcześniej wykryta za pomocą testów genetycznych. Choroba objawia się m.in. charakterystycznymi, nieskoordynowanymi ruchami mięśni (pląsawicą), obniżeniem zdolności poznawczych i zmianami psychiatrycznymi. Średnia długość życia po ujawnieniu się choroby wynosi ok. 20 lat.

Potencjalne terapie eksperymentalne (m.in. reagenty technologii RNAi, wykorzystanie komórek macierzystych) wydają być się ograniczone m.in. trwałością uzyskanego efektu terapeutycznego, problemami immunologicznymi, jak również kontrowersjami etycznymi. Alternatywą jest wykorzystanie technologii iPSC, która umożliwia połączenie zalet wyżej wymienionych podejść, ale pozbawiona jest ich ograniczeń. Ta innowacyjna i intensywnie rozwijana technologia polega na przeprogramowaniu zróżnicowanych, dorosłych komórek somatycznych w indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (induced Pluripotent Stem Cells, iPSC), które mogą być wykorzystane w badaniach *in vitro* jako komórkowy model choroby, jak również w autologicznej terapii *in vivo*.

Celem niniejszej pracy doktorskiej jest terapia *in vivo* mysiego modelu choroby Huntingtona, z zastosowaniem „wyleczonych” *in vitro* komórek iPS pozyskanych od chorej myszy. Projekt zakłada udoskonalenie metody pozyskiwania komórek iPS (zwiększenie wydajności i bezpieczeństwa) pod kątem terapii *in vivo*. Następnie komórki iPS zostaną poddane modyfikacji genetycznej z wykorzystaniem stabilnie zintegrowanej z genomem kasety ekspresyjnej uwalniającej reagent typu sh-miR (sztuczną cząsteczkę shRNA umieszczoną w kadłubie endogennego mikroRNA). Taka modyfikacja ma zapobiec akumulacji patogennego białka w sposób trwały, przy wykorzystaniu naturalnego dla komórki szlaku biogenezy

mikro/siRNA. Wybrane linie komórkowe będą następnie różnicowane do prekursorów neuronów i na drodze zoptymalizowanej iniekcji stereotaktycznej dostarczane do prążkowiec mózgu chorej myszy. Efekt terapeutyczny będzie oceniany testami behawioralnymi i molekularnymi, także w porównaniu z terapią autologicznymi komórkami niewyleczonymi. Ponadto, zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* wykorzystywane komórki będą charakteryzowane pod względem bezpieczeństwa. Interesującym aspektem pracy będzie również próba odpowiedzi na pytania podstawowe w zakresie m.in. biologii komórek macierzystych oraz transportu i zachowania komórek w obrębie mózgu czy natury mechanizmów odpowiedzialnych za ewentualny pozytywny efekt terapeutyczny.

Wyniki badań nad proponowaną terapią choroby Huntingtona w modelu mysim będą stanowić silną podstawę do opracowania metody nadającej się do przeprowadzenia badań klinicznych z udziałem pacjentów. Opracowana technologia mogłaby zostać również wykorzystana w terapii pozostałych chorób poliglutaminowych (np. ataksji-rdzeniowo mózdkowych) oraz innych chorób neurodegeneracyjnych.