

## ANALIZA POTENCJAŁU TERAPEUTYCZNEGO PROGENITORÓW GLEJOWYCH PRZESZCZEPIANYCH W EKSPERYMENTALNYCH MODELACH CHOROÓB DEMIELINIZACYJNYCH

Choroby neurodegeneracyjne klasyfikują się wysoko na liście chorób cywilizacyjnych, ponieważ ich występowanie drastycznie zwiększa się wraz z wydłużaniem czasu życia populacji. Obecnie szczególnym zainteresowaniem w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych cieszą się terapie z udziałem komórek macierzystych czy progenitorowych, które mogłyby zapewnić funkcjonalną odnowę uszkodzonych neuronów. Ostatnie badania wskazują, na duży udział komórek gleju w patologii chorób neurodegeneracyjnych. Fakt ten wiąże się z funkcjami biologicznymi pełnionymi przez komórki gleju tj. utrzymaniem homeostazy neuronów, koniecznością zapewnienia składników odżywczych czy procesami mielinizacji. Badania dotyczące terapii z udziałem komórek glejowych wskazują na ich wysoki potencjał terapeutyczny w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych. Dlatego też, celem proponowanego projektu jest zbadanie potencjału terapeutycznego mysich progenitorów glejowych (mGRPs) przeszczepianych w eksperymentalnym modelu demielinizacji u myszy shiverer (shiv). Istotą projektu będzie ocena zdolności mielinizacyjnych egzogennych mGRPs w mózgu i rdzeniu myszy shiverer. Ponadto w realizowanym projekcie planujemy zweryfikować hipotezę mówiącą o tym, że właściwości funkcjonalne mGRPs można zwiększyć poprzez indukcję długo-terminowej ekspresji neureguliny-1 (NRG-1), stąd do badań będą wykorzystane zarówno natywne mGRPs jak i komórki wykazujące nadekspresję NRG-1, otrzymane metodą transdukcji mGRPs przy użyciu wektorów lentiwirusowych.

Szczegółowe cele projektu będą realizowane w kolejnych etapach badań:

1. W pierwszym etapie z mózgów i rdzeni 2-3 dniowych osesków myszy Balb/c zostaną wyizolowane GRPs. Komórki te będą transdukowane lentiwirusem produkującym NRG-1 (mGRPs-NRG-1), scharakteryzowane przy użyciu metod immunohistochemicznych a ich fenotyp porównany będzie z komórkami natywnymi, nie-transdukowanymi (mGRPs).
2. Następnym etapem będzie ocena proliferacji, migracji oraz właściwości mielinizacyjnych przeszczepianych GRPs. Do oceny migracji komórek zastosujemy metodę migracji promienistej, natomiast ocena zdolności do mielinizacji będzie wykonana z udziałem hodowanych wspólnie progenitorów gleju oraz neuronów zwojów nerwowych korzenia grzbietowego (DGR). Właściwości mGRPs i mGRPs-NRG-1 będą analizowane z udziałem metod immunohistochemicznych. Migracja tych komórek będzie rejestrowana przez 24-72 godziny przy użyciu mikroskopu Cell Observer (Zeiss).
3. W ostatnim etapie podejmiemy próbę porównania *in vivo* właściwości terapeutycznych mGRPs i mGRPs-NRG-1. W tej części projektu komórki natywne i wykazujące nadekspresję NRG-1 zostaną przeszczepione do istoty białej mózgu myszy shiverer – modelu chorób demielinizacyjnych. Procesy mielinizacji będą oceniane z udziałem obrazowania w rezonansie magnetycznym (MRI), przy użyciu mikroskopii elektronowej oraz metod immunohistochemicznych. Część zwierząt po przeszczepie zostanie w hodowli, aż do naturalnej śmierci w celu oceny wpływu przeszczepionych mGRPs lub mGRPs-NRG-1 na długość życia biorców. Odrębna grupa zwierząt posłuży do weryfikacji losów komórek po przeszczepie między innymi migracji, przeżycia i mielinizacji aksonów. Analiza ta zostanie przeprowadzona przy użyciu metod immunohistochemicznych.

W wyniku realizacji badań będziemy w stanie ocenić, stosując najnowsze metody morfologiczne i funkcjonalne, w jaki sposób działają egzogenne progenitory glejowe przeszczepione w modelu demielinizacji. To może stanowić asumpt do ich wykorzystania w eksperymentach klinicznych.

Finansowanie: SONATA13, numer rejestracyjny projektu: 2017/26/D/NZ3/00721 (kierownik projektu: dr Luiza Stanaszek)