

## STRESZCZENIE

**Wstęp:** Choroba Duchenne'a (DMD) jest obiektem wieloletnich badań zarówno podstawowych, jak i klinicznych. Obecna wiedza pozwala skupić się na poszukiwaniu nowych terapeutycznych rozwiązań mających na celu leczenie przyczynowe, zamiast leczenia objawowego. Ze względu na różnorodność mutacji w genie *DMD* poszukuje się uniwersalnego podejścia, mającego wpływ na zastosowanie wspólnej terapii dla wsparcia funkcji mięśni szkieletowych. Celem niniejszego badania było opracowanie linii komórek mezoangioblastycznych modyfikowanych konstrukcją lentiwirusową zawierającą sekwencję dla mikrodistrofiny ( $\mu$ DYS), które mogłyby poprawić funkcję mięśni szkieletowych pacjentów z dystrofią mięśniową Duchenne'a o różnym podłożu genetycznym.

**Materiał i metody:** W badaniach wykorzystano indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (iPS), przeprogramowane z komórek mięśniowych pozyskanych od chorych na DMD chłopców o fenotypach łagodnym i ciężkim (n=4) oraz od osoby zdrowej (kontrola), które zróżnicowano w komórki o charakterze mezenchymalnym (HIDEMs). Następnie zastosowano lentiwirusową konstrukcję zawierającą sekwencję dla  $\mu$ DYS do transdukcji komórek HIDEMs. Obserwowano wpływ transdukcji na ścieżkę sygnałową aktywatora mięśni poprzecznie prążkowanych RhoA (STARS) oraz parametry stresu oksydacyjnego, w celu zbadania drugorzędowych skutków rozwoju DMD. Transdukowane komórki podano myszom *mdx* (n=4), a następnie sprawdzono wpływ zastosowanej terapii na długość pokonanego dystansu oraz liczbę przyjętych przez zwierzę szoków elektrycznych podczas eksperymentów na bieżni w odniesieniu do grupy SHAM (n=4) oraz myszy zdrowych (kontrolnych, n=4).

**Wyniki:** Wykazano pluripotentny charakter komórek iPS, a następnie wyhodowane autologiczne komórki iPS od poszczególnych pacjentów i kontroli zróżnicowano do komórek HIDEMs, potwierdzając ich mezenchymalny charakter. Komórki poddano transdukcji lentiwirusowej zawierającej sekwencję  $\mu$ DYS, uzyskując jej nadekspresję we wszystkich badanych liniach komórkowych za wyjątkiem pacjenta tetraplegicznego. Zbadano poziomy ekspresji genów wchodzących w skład ścieżki sygnałowej STARS. Stwierdzono wzrost ekspresji *SRF* *NFKB1* i *TNFA* jedynie w komórkach u pacjenta 38 ( $p < 0,001$ ). Zbadano również poziom aktywności enzymów katalazy (CAT) i dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) oraz poziom całkowitej pojemności antyoksydacyjnej w homogenizatach komórek HIDEMs transdukowanych mikrodistrofiną i bez. Stwierdzono spadek aktywności CAT oraz TAC oraz wzrost aktywności SOD u pacjentów 34 oraz 38 ( $p < 0,001$ ) o łagodnym fenotypie. Transdukowane komórki zostały przeszczepione myszom *mdx* do mięśnia piszczelowego przedniego. Myszy *mdx* poddano testom na bieżni, nie uzyskując istotnych różnic w pokonanym dystansie u myszy kontrolnych wobec myszy poddanych terapii komórkowej. Zaobserwowano znamienne niższą liczbę szoków elektrycznych u myszy poddanych interwencji HIDEMs z mikrodistrofiną.

**Wnioski:** Wyniki sugerują, że zastosowanie transdukcji komórek konstrukcją lentiwirusową zawierającą sekwencję  $\mu$ DYS może wpływać na zmniejszenie stresu oksydacyjnego w komórkach. Jednak oddziaływanie to uzyskiwało znamienne statystyczne w komórkach pobranych od pacjentów o łagodnym przebiegu choroby DMD.