

## **Wzmocnienie naprawy serca po zawale za pomocą genetycznie ulepszonych kardiomiocytów i komórek śródbłonka uzyskanych z indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych**

Choroby sercowo-naczyniowe są główną przyczyną zgonów na świecie i wiodącą przyczyną śmierci w Polsce i Chinach. Chociaż zawał serca (ZS) jest obecnie skutecznie leczony u wielu pacjentów, u znacznej liczby osób dotkniętych ZS rozwija się niewydolność serca (NS) wywoływana także przez inne przyczyny, takie jak miażdżyca, nadciśnienie, migotanie przedsionków, wada zastawkowa serca, nadmiar alkoholu, infekcje (grypa) czy różne kardiomiopatie. Przeżywalność pacjentów z NS jest jeszcze gorsza niż w przypadku wielu nowotworów, gdyż wynosi 50% po 5 latach. W związku z tym wielu pacjentów oczekuje przeszczepu serca, jednak jest on dostępny tylko dla około 10% z nich.

NS rozwija się, ponieważ zdolność regeneracji serca jest bardzo ograniczona, a w sercu nie ma komórek macierzystych. Po zawale mięśnia sercowego martwe komórki mięśnia sercowego (kardiomiocyty), których ginie nawet do miliarda, zastępowane są tkanką łączną. By temu zapobiec, szeroko stosowano komórki nie będące prekursorami kardiomiocytów, takie jak komórki szpiku kostnego, czy tzw. mezenchymalne komórki macierzyste. Jednak nie wykazano żadnej rzeczywistej długotrwałej poprawy funkcji serca i stanu zdrowia pacjentów. Nadal istotne jest więc rozwijanie biologicznie uzasadnionych terapii opartych na ludzkich kardiomiocytach wytwarzanych *in vitro* z pluripotencjalnych komórek macierzystych, takich jak indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (hiPSC). Co ważne w badaniach przedklinicznych wykazano, że podanie takich komórek do serca myszy (m.in. nasze opublikowane badania), świni lub naczelnych (makaki), znacząco poprawiało funkcji serca po zawale. Jednak wszczepienie kardiomiocytów pochodzących z hiPSC (hiPSC-CM) nadal nie jest w pełni efektywne, a ryzyko wywoływania arytmii przez kurczące się komórki wstrzyknięte do serca wymaga testowania nowych strategii zanim dojdzie do zastosowań klinicznych.

Celem projektu jest zbadanie skuteczności zastosowania ulepszonych komórek progenitorowych otrzymywanych z hiPSC (hiPSC-CPC) i mających zdolność różnicowania w kierunku hiPSC-CM i komórek śródbłonka (hiPSC-EC) w celu poprawy funkcji serca po zawale mięśnia sercowego. Bazując na naszych dotychczasowych doświadczeniach zespołu polskiego i chińskiego stawiamy hipotezę, że nadekspresja oksygenazy hemowej-1 (HO-1) cytoprotekcyjnego, anty-apoptotycznego, przeciwzapalnego, proangiogennego i immunomodulującego białka, zwiększy przeżywalność komórek wstrzykiwanych do uszkodzonego mięśnia sercowego. Ponadto przebadamy możliwość zastosowania regulowanej ekspresji HO-1, wykorzystując bezpieczne i stosowane już w klinice wektory AAV, do których wprowadzimy sekwencję kodującą HO-1 pod kontrolą sekwencji HRE, aktywowanej przez czynnik transkrypcyjny HIF (hypoxia inducible factor). Z drugiej strony zastosowanie komórek progenitorowych (a nie kurczących się kardiomiocytów), które dojrzewając w sercu będą mogły zsynchronizować swoje skurcze z kurczącym się mięśniem sercowym oraz przyczynić się do lepszego unaczynienia uszkodzonej tkanki, może ograniczyć ryzyko wystąpienia arytmii, a przez to zwiększyć bezpieczeństwo badanej terapii. Dodatkowo, w ramach projektu, przygotowane zostaną trójwymiarowe łąty tkankowe z wykorzystaniem hiPSC-CPC i odpowiedniego podłoża, zapewniającego warunki dla lepszej integracji podawanych komórek z uszkodzoną tkanką sercową. Badania zostaną przeprowadzone na myszach NOD-SCID, u których upośledzenie układu immunologicznego umożliwia przyjęcie ludzkich komórek. Badania na myszach pozwolą wykazać skuteczność i bezpieczeństwo przejściowej ekspresji HO-1, a długotrwała obserwacja pozwoli na ocenę bezpieczeństwa takiej terapii. Przypuszczamy, że zwiększona, ale i regulowana przez niedotlenienie aktywność HO-1 ułatwi integrację dojrzewających kardiomiocytów z sercem, przyczyni się do ograniczenia stanu zapalnego i poprawi unaczynienie, a zarazem może zwiększyć zagnieżdżenie komórek. Efektem realizacji projektu będzie poszerzenie wiedzy na temat mechanizmów zagnieżdżania się i usprawniania funkcji serca przez kardiomiocyty i komórki śródbłonka otrzymywane z komórek progenitorowych uzyskanych w wyniku różnicowania hiPSC i wykazanie zasadności zaproponowanych strategii regeneracyjnych. Zdobyta wiedza będzie przydatna w przyszłości dla opracowywania nowych, skutecznych i bezpiecznych metod terapii niewydolności serca.