

**Wpływ poziomu białka CYP46A1 w mózgu mysiego modelu Ki150 w kontekście roli metabolizmu cholesterolu w patogenezie ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 3.**

Zaburzenia przemian cholesterolu w mózgu związane są z przeważającą częścią chorób neurodegeneracyjnych, w tym choroby Alzheimera, Parkinsona, Huntingtona, ataksji rdzeniowo-mózdkowej typu 3 (SCA3), jak również chorób neurologicznych takich jak schizofrenia, padaczka czy autyzm. SCA3 jest chorobą neurodegeneracyjną, obecnie nieuleczalną. Jedną z głównych struktur zdegenerowanych w SCA3 jest mózdzek, w którym neurony Purkinjego (PC), grają najważniejszą funkcję w przemianie cholesterolu mózgowego, stanowiąc główne źródło 24-hydroksylazy cholesterolu (CYP46A1). Enzym ten wpływa na ilość cholesterolu w mózgu, poprzez kontrolę wydalania tego związku przez barierę krew-mózg. CYP46A1 jest także kluczowym aktywatorem szlaku mewalonianowego, którego produkty pochodne mają istotny wpływ na szlaki sygnalizacyjne regulujące ważne procesy komórkowe i molekularne, często związane z neurodegeneracją. Dlatego modulacja poziomu CYP46A1 może być podstawą skutecznej terapii SCA3 dostarczanej z udziałem nośników AAV, które już obecnie są stosowane w terapiach genowych.

Skuteczna terapia genowa w chorobach układu nerwowego podawana z pomocą AAV jest uzależniona od osiągnięcia zadowalającej biodystrybucji, która w przypadku SCA3, powinna być skupiona na PC. Na podstawie eksperymentów przeprowadzonych w pracy doktorskiej poznano właściwości wektorów wirusowych AAVrh10 oraz AAV-PHP.eB. Wektory wirusowe o serotypie AAVrh10 oraz AAV-PHP.eB mają zdolność do transportu anterogradowego oraz retrogradowego. Wykorzystując sieć projekcji komórek mózdzku oraz technikę wstrzyknięć bezpośrednich osiągnęliśmy transdukcję szerokiej puli populacji komórek mózdzku z powtarzalnym wzorem transdukcji. Opracowano metodę selektywnych i efektywnych bezpośrednich iniekcji stereotaktycznych z zastosowaniem wymienionych serotypów wektorów wirusowych, w szczególności do transdukcji PC mózdzku, poprzez podanie do jąder głębokich mózdzku (DCN).

Wszelkie zmiany CYP46A1 mogą zmieniać poziom cholesterolu w mózgu, a tym samym wpływać na przebieg i ciężkość fenotypu chorób związanych z jego metabolizmem. Wykazaliśmy, że poziom enzymu CYP46A1 jest obniżony w mózdzku transgenicznych myszy SCA3 Ki150, które wykazują zmiany motoryczne podobne do tych obserwowanych u

pacjentów SCA3. Założyliśmy, że zmiany u pacjentów i zmiany fenotypowe u myszy SCA3 Ki150 mogą być związane z zaburzoną gospodarką cholesterolu w mózdzku.

Podanie reagentów shRNA, które modulują poziom CYP46A1, do modelu WT i SCA3 Ki150 spowodowały inhibicję ekspresji *CYP46A1*. Testy wykazały poprawę sprawności motorycznej u myszy, które otrzymały shRNA hamujące ekspresję *CYP46A1*, w porównaniu do odpowiednich grup kontrolnych. Przedstawiamy jeden z pierwszych wyników łączących redukcję poziomu CYP46A1 w mózdzku, z poprawą fenotypu w mysim modelu WT i zaburzeń neurodegeneracyjnych SCA3 Ki150. Prawdopodobnie zmniejszenie ekspresji genu *CYP46A1*, a w konsekwencji obniżenie poziomu białka CYP46A1, poprawia funkcjonowanie neuronów Purkinjego, na skutek możliwej aktywacji mechanizmów kompensujących, których zadaniem jest promowanie przeżywalności neuronów. Nasze badania prezentują CYP46A1 jako potencjalny cel terapeutyczny i wskazują potrzebę szczegółowego i szerszego zrozumienia obniżonej ekspresji *CYP46A1* w SCA3.