

POPULARNONAUKOWY OPIS BADAŃ PROWADZONYCH W RAMACH ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Wirusowe zapalenie wątroby typu C stanowi poważny problem zdrowia publicznego. Przyjmuje się, że wirusem zapalenia wątroby typu C (ang. *hepatitis C virus*, HCV) zarażonych jest około 2,35% populacji światowej. U około 20% zakażonych obserwuje się spontaniczną eliminację wirusa w fazie ostrej, czyli w ciągu pierwszych sześciu miesięcy od zakażenia. Niestety rozpoznanie ostrej fazy infekcji jest bardzo trudne, gdyż najczęściej przebiega bezobjawowo. Dlatego też w około 80% przypadków infekcja przechodzi w postać przewlekłego zapalenia wątroby, które tocząc się przez wiele lat bezobjawowo prowadzi do postępującego uszkodzenia tego organu. Przewlekła infekcja HCV jest uważana za główną przyczynę rozwoju marskości wątroby i raka wątrobowokomórkowego. Szacuje się, że każdego roku z powodu HCV-zależnych chorób wątroby umiera około 400 tys. osób. Największymi wyzwaniami badań nad HCV jest zapobieganie nowym zakażeniom (wynalezienie szczepionki) oraz zwalczanie obecnych zakażeń poprzez wczesne wykrycie choroby. Problem zwalczania istniejących zakażeń, przy ciągle wzrastającej liczbie nowych, wskazuje na dużą potrzebę poznania i zrozumienia mechanizmów leżących u podstaw braku eliminacji HCV.

W ostatnich latach uwagę naukowców zwróciły krótkie, niekodujące cząsteczki RNA, zwane mikro RNA (miRNA, miR), które uważane są za jedne z ważniejszych regulatorów potranskrypcyjnej ekspresji genów. Odkrycie miRNA uruchomiło falę intensywnych badań nad ich biologiczną rolą zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i patologicznych, w tym również w przewlekłym wirusowym zapaleniu wątroby typu C (pWZW C). Wykazano, że miRNA mają istotne znaczenie zarówno dla replikacji i stabilizacji genomu HCV, jak również przebiegu infekcji. Poprzez negatywną regulację ekspresji szeregu genów, miRNA modulują kluczowe procesy komórkowe takie jak proliferacja, cykl komórkowy, różnicowanie, apoptoza, jak również transformacja nowotworowa. Obecność i stabilność miRNA w płynach ustrojowych dodatkowo przemawia za ich potencjalną przydatnością jako biomarkerów diagnostycznych, prognostycznych i predykcyjnych.

Celem pracy doktorskiej jest poznanie znaczenia wybranych miRNA dla rozwoju i przebiegu pWZW C. Cel zostanie zrealizowany poprzez analizę oddziaływań miRNA z docelowymi mRNA oraz ocenę wpływu tych oddziaływań na funkcje hepatocytów i cykl życiowy HCV *in vitro* w modelu ludzkich komórek wątroby. Zostanie również oceniona użyteczność analizy ekspresji krążących miRNA jako potencjalnych markerów prognostycznych i predykcyjnych w pWZW C.

Prowadzone badania obejmują wybór miRNA o istotnie zmienionej ekspresji oraz niewyjaśnionej roli w pWZW C, ustalenie na podstawie analiz *in silico* potencjalnie docelowych mRNA dla tych miRNA i eksperymentalne potwierdzenie oddziaływań *in vitro* z wykorzystaniem systemu genów reporterowych oraz linii ludzkich komórek wątroby. Zostanie również przeanalizowany wpływ występowania polimorfizmów pojedynczych nukleotydów w miejscu wiązania analizowanych miRNA do mRNA na siłę tego wiązania. Ponadto zostanie także oceniony wpływ wybranych miRNA na funkcję hepatocytów *in vitro*.

W ramach stypendium doktorskiego *ETIUDA 6* zaplanowane jest odbycie sześciomiesięcznego stażu w *Zakładzie Mikrobiologii i Immunologii Uniwersytetu Północnej Karoliny w Chapel Hill*, w zespole Profesora Stanleya Lemona. W trakcie pobytu w ośrodku zagranicznym, w oparciu o szerokie doświadczenie grupy badawczej oraz bogate zaplecze badawcze jednostki, będą prowadzone badania nad bezpośrednim wpływem cząsteczki miR-122 na cykl życiowy HCV *in vitro*.

Badania prowadzone w ramach rozprawy doktorskiej, jak również zadania badawcze zaplanowane na czas pobytu w ośrodku zagranicznym mają na celu poszerzenie aktualnej wiedzy na temat znaczenia miRNA w patogenie pWZW C. Otrzymane wyniki pozwolą na lepsze zrozumienie roli tych cząsteczek w regulacji infekcyjności HCV. Ponadto pogłębią wiedzę o zależnościach gospodarz-patogen oraz mechanizmach warunkujących brak eliminacji wirusa przez komponenty wrodzonej odpowiedzi immunologicznej gospodarza. Wyniki będą mogły stanowić podstawę do dalszych badań nad przydatnością wyselekcjonowanych miRNA jako markerów prognostycznych i predykcyjnych oraz potencjalnych celów terapii w pWZW C.