

Choroba Huntingtona (HD) to dziedziczna choroba neurodegeneracyjna, na którą obecnie nie ma lekarstwa. Jej objawy obejmują mimowolne ruchy, demencję, depresję, lęki i inne. Wcześniejsze badania materiału pośmiertnego pacjentów z HD wykazały, że choroba charakteryzuje się agregacją zmutowanego białka Huntingtyny, zwanego także mHTT. Zmutowana HTT posiada wydłużony fragment złożony z glutamin, kodowany przez powtórzenia CAG w genie *HTT*. Agregaty HTT są toksyczne dla komórek nerwowych w ludzkim mózgu, co prowadzi do neurodegeneracji. Pierwszymi neuronami ulegającymi zmianom neurodegeneracyjnym w HD są tzw. „neurony kolczyste średniej wielkości” (MSNs), które znajdują się w obszarze przodomózgowia zwanym prążkowiem („striatum”), odpowiedzialnym za kontrolę funkcji ruchowych. Im dłuższe powtórzenia CAG w genie *HTT*, tym szybciej pojawiają się objawy HD. Istnieją dwa typy początków choroby: forma dorosła, w której liczba powtórzeń CAG przekracza 40 i objawy mają początek w wieku 30-50 lat, oraz forma młodzieńcza, z wydłużonymi powtórzeniami CAG powyżej 60 i objawami pojawiającymi się przed 21 rokiem życia (a nawet we wczesnym dzieciństwie). Początek choroby w wieku dorosłym stanowi około 95% wszystkich przypadków HD, a pozostałe dotyczą młodzieńczej formy. Naukowcy poszukują molekularnych przyczyn HD, by znaleźć rozwiązania terapeutyczne. W związku z tym potrzebne jest odkrywanie nowych markerów i potencjalnych celów terapeutycznych w modelach tej choroby.

Wiadomo, że prawidłowa forma HTT jest niezbędna dla rozwoju mózgu. Embriony myszy pozbawione tego białka nie przeżywają. Podejrzewa się więc, że początek HD wywołany przez mHTT może mieć miejsce podczas rozwoju mózgu w okresie embrionalnym i płodowym. Coraz więcej badań pokazuje, że zarówno młodzieńcza, jak i dorosła postać HD mają swoje źródło podczas rozwoju mózgu. Jednym ze sposobów modelowania rozwoju mózgu jest zastosowanie komórek macierzystych pozyskanych z fibroblastów skóry. Poprzez pobranie biopsji skóry od pacjentów z HD i osób zdrowych (kontrolnych), fibroblasty te przekształca się w laboratorium w komórki macierzyste za pomocą odpowiednich czynników transkrypcyjnych. Model ten nazywa się ludzkimi indukowanymi pluripotentnymi komórkami macierzystymi (hiPSC) i jest wykorzystywany w naszych badaniach do uzyskania różnych typów komórek nerwowych z prążkowia. Nasze wstępne wyniki z neuroprogenitorów (NPC), które uzyskaliśmy przez różnicowanie hiPSC od pacjentów z obu form HD, wskazują, że tworzą one struktury przypominające rozety, które są poważnie upośledzone w porównaniu do NPC od osób kontrolnych. Podobne zaburzenia w NPC wykazaliśmy w modelach zwanych „organoidami striatalnymi”, naśladującymi rozwijające się prążkowie, które również hodujemy w laboratorium. Sygnalizacja wapniowa odgrywa kluczową rolę w rozwoju mózgu, a jej zaburzenia były obserwowane w HD. Nasze wstępne badania wskazują na zaburzenia pojemnościowego napływu jonów wapnia do komórek (z ang. Store-Operated Calcium Entry, SOCE) na wczesnym etapie rozwoju prążkowia w młodzieńczej i dorosłej formie HD. Dlatego postawiliśmy hipotezę, że mHTT wywołuje zaburzenia w procesie SOCE prowadząc do nieprawidłowości w różnicowaniu neuroprogenitorów i dojrzewaniu neuronów podczas rozwoju prążkowia. Taka nierównowaga w sygnalizacji wapniowej poprzedza klasyczną neurodegenerację i może być ogniwem łączącym wczesne zaburzenia rozwojowe prążkowia z postępem choroby Huntingtona.

Do realizacji naszych badań zastosujemy najnowocześniejsze i przełomowe osiągnięcia ostatnich lat w obszarze komórek macierzystych, inżynierii tkankowej, neurobiologii molekularnej oraz metody badań sygnalizacji wapniowej, transkryptomiki oraz proteomiki. Jednym z nich będzie uzyskanie striatalnych organoidów mózgowych pochodzących z hiPSC od pacjentów z HD i osób zdrowych. Ponieważ HD jest chorobą genetyczną, istnieje ryzyko wykrycia różnic między pacjentami a osobami zdrowymi, które nie wynikają z mutacji w *HTT*, lecz z różnic w tle genetycznym między porównywanymi osobami. Aby temu zapobiec, wykorzystamy „izogeniczne linie hiPSC” tworzone w laboratorium dzięki edycji genów za pomocą „nożyczek genetycznych” CRISPR/Cas9. Do naszych badań zastosujemy izogeniczne linie hiPSC z młodzieńczej i dorosłej formy HD różniące się długością CAG w genie *HTT* oraz linię kontrolną z takim samym tłem genetycznym. Następnie uzyskamy w laboratorium NPCs, MSNs oraz organoidy prążkowia z młodzieńczą i dorosłą postacią HD oraz kontrolne. Zostaną one wykorzystane do potwierdzenia związku między zwiększoną długością powtórzeń CAG w genie *HTT* w obu formach HD, zaburzonym SOCE i obserwowanymi nieprawidłowościami w rozwoju prążkowia. Przy użyciu edycji genów lub inhibitorów SOCE zbadamy czy zwiększony napływ wapnia do komórek indukuje zaburzenia neurorozwojowe prążkowia w HD oraz zidentyfikujemy mechanizmy, które prowadzą do tej patologii.

Podsumowując, proponowane badania dostarczą nowej wiedzy na temat molekularnych mechanizmów patologii dorosłej i młodzieńczej formy choroby Huntingtona, identyfikując nowe cele terapeutyczne dla tych pacjentów.