

Uzasadnienie, cele i projekt badania

Choroba Alzheimera (AD) to postępująca choroba neurodegeneracyjna charakteryzująca się gwałtownym pogorszeniem funkcji poznawczych. Głównymi markerami patologicznymi w AD są złogi β -amyloidu ($A\beta$) i neurofibrylarne spletki tau (NFT). Pomimo szeroko zakrojonych badań, AD jest klasyfikowana głównie jako idiopatyczna o niejasnej przyczynie i nieznanym genetyce. Genetyczne podłoże rodzinnej AD (FAD) jest znane w pojedynczych genach dla 1% wszystkich przypadków AD. Natomiast wielogenowe podłoże zostało opisane jako czynniki ryzyka dla sporadycznej postaci AD (SAD), dla 30% przypadków SAD. Pozostałe przypadki pozostają idiopatyczne. Dotychczasowe badania wskazywały głównie na patologiczne przetwarzanie amyloidu, jako głównego objawu FAD i SAD, co doprowadziło do rozwoju tak ukierunkowanych terapii. Po licznych udoskonaleniach opisano ostatnio, że leki te wykazują poprawę funkcji poznawczych, ale mogą być obciążone powikłaniami, takimi jak mikrokrewawienia czy obrzęki mózgu. Z kolei całkowita eliminacja amyloidu może kolidować z jego fizjologicznym działaniem ochronnym. Terapie te są ponadto wycelowane jedynie w fazę już objawową choroby, gdy utrata neuronów jest nieodwracalna. Podsumowując, istniejące terapie (głównie amyloidowe) są niewystarczające, aby całkowicie zahamować postęp choroby i lawinowy wzrost zachorowań. Brakuje lepszych metod leczenia / wykrywania zwłaszcza wczesnego etapu idiopatycznej, wciąż i przeważającej liczebnie, postaci.

Tymczasem, oprócz amyloidu, w chorobie Alzheimera zaburzonych jest wiele innych procesów, takich jak plastyczność mózgu, odpowiedź neuroimmunologiczna i/lub reakcja na stres oksydacyjny. Rodzi to pytanie o zależność między domniemaną genetyką AD a wymienionymi procesami. Związek ten można znaleźć w wpływie różnego typu zmian epigenetycznych, które wciąż są bardzo słabo rozpoznane we wczesnej fazie idiopatycznej choroby Alzheimera. Ponadto, badania epigenetyczne w chorobie Alzheimera obejmowały dotychczas materiały takie jak pośmiertna tkanka mózgowa, płyn mózgowo-rdzeniowy, krew, modele zwierzęce oraz modele komórkowe, takie jak neurony pochodzące z indukowanych pluripotentnych komórek macierzystych (iPSC). W związku z tym badania te mają ograniczenia, takie jak około/po-śmiertna faza choroby, nieneuronalny lub zwierzęcy charakter oraz, przynajmniej częściowo, wymazanie pamięci epigenetycznej (jak w przypadku neuronów pochodzących z iPSC). Obiecującą alternatywą jest model ludzkich neuronów indukowanych bezpośrednio z fibroblastów (tzw. iNeurony) pozyskanych od pacjentów we wczesnych stadiach choroby. iNeurony zachowują cechy związane z wiekiem bez resetowania zegara biologicznego, co zaobserwowano w przypadku iPSC-neuronów. Na tej podstawie, iNeurony wydają się być najodpowiedniejszym modelem do badania epigenetyki idiopatycznej wczesnej fazy choroby Alzheimera.

Celem tego projektu jest zatem identyfikacja zmian epigenetycznych, potencjalnie inicjujących rozwój choroby Alzheimera. W szczególności projekt będzie oceniał zmiany takie jak metylację DNA i modyfikacje histonów, a także regulujące je RNA, wykorzystując model iNeuronów. Porównamy zmiany epigenetyczne w iNeuronach i fibroblastach (materiał źródłowy), korelując je ze profilem DNA i RNA. Linie komórkowe będą pochodzić z czterech grup: 1) okołoobjawowej/wczesnej SAD, 2) łagodnych zaburzeń poznawczych (MCI) w kierunku SAD, 3) objawowej FAD z mutacjami monogenowymi (jako kontrola negatywna) oraz 4) zdrowych osób kontrolnych. Ten model badawczy zapewni optymalny wgląd w mechanizmy epigenetyczne przyczyniające się do wczesnego stadium neurodegeneracji w idiopatycznej chorobie Alzheimera.

Metodologia

Zebrane i ustalone linie fibroblastów ze wskazanych grup zostaną indukowane neurogennymi czynnikami transkrypcyjnymi (Ascl1, Brn2) dostarczającymi do komórek fibroblastów jako mRNA w kompleksach lipidowych. Powstałe linie iNeuronów zostaną poddane głębokiemu sekwencjonowaniu nowej generacji w celu oceny zmian epigenomu, genomu, i transkryptomu. Następnie przeprowadzona zostanie zintegrowana analiza bioinformatyczna otrzymanych danych. Statystycznie istotne wyniki epigenetyczne zostaną dodatkowo zweryfikowane w DNA grup około/po-śmiertnych SAD i zdrowych stulatków bez demencji. Na koniec wybrane procesy i szlaki epigenetyczne zostaną sprawdzone funkcjonalnie przy użyciu odpowiednich technik biologii molekularnej, biochemii i inżynierii genetycznej w iNeuronach.

Oczekiwany wpływ

Spodziewanym efektem tego projektu jest pogłębienie naszej wiedzy na temat wpływu zmian epigenetycznych na idiopatyczną chorobę Alzheimera, oferując potencjalne nowe cele terapeutyczne i markery diagnostyczne.