

Stwardnienie zanikowe boczne (ALS) to choroba nerwowo-mięśniowa charakteryzująca się neurogenym zanikiem mięśni. ALS charakteryzuje się postępującym i wybiórczym uszkodzeniem neuronów ruchowych rogów przednich rdzenia, pnia mózgu i kory ruchowej. Brak wiedzy na temat patomechanizmu choroby skierowały badania w kierunku diagnostyki molekularnej, co pozwoliło w niektórych przypadkach potwierdzić genetyczne tło choroby. Ale pomimo ponad 30 lat badań, od czasu identyfikacji pierwszej mutacji sprawczej w genie SOD1, dokładny patomechanizm choroby wciąż nie jest wyjaśniony. W ostatnich kilku latach zidentyfikowano szereg genów, których mutacje związane są z ALS.

Mimo, iż składniki genetyczne ALS częściowo zdefiniowane, wciąż brak jednoznacznych danych czy degeneracja neuronów powodowana przez mutacje we wspomnianych genach odbywa się na jednej wspólnej czy wielu oddzielnych ścieżkach. Mimo kilku dziesięcioleci badań różnych aspektów patologii ALS, które przyczyniły się do poznania genetycznych i biochemicznych zaległości, przyczyna rozwoju choroby jest wciąż niejasna.

Eksperymenty z wykorzystaniem modelu zwierzęcego mogą pomóc w wyjaśnieniu patomechanizmu, ale często nie powielają fenotypu choroby, a same badania są czasochłonne i kosztowne. Oprócz jednej zmiany (mutacji) - pełne tło genetyczne testowane jest, zwłaszcza w chorobach wielogenowych jak ALS, które z założenia nie mogą być badane w modelach zwierzęcych. W ostatnich latach przeprowadzono badania transkryptomu wykorzystując materiał z autopsji od chorych na ALS i osób neurologicznie zdrowych. Takie podejście może pomóc w identyfikacji genów i ścieżek zaangażowanych w patogenezę ALS jednak przeszkodą do pokonania jest czas od momentu śmierci do autopsji i zmiany przebiegające po śmierci w komórkach i tkankach.

Biorąc pod uwagę powyższe zastosowanie pierwotnych linii komórkowych ludzkich fibroblastów pochodzących bezpośrednio od pacjentów może być rozwiązaniem na niektóre niedogodności związane z badaniem na modelach zwierzęcych lub materiale autopsyjnym. Zastosowanie fibroblastów w tych badaniach oprócz tego że pozwala na badanie całego „rodowiska” (mutacja + tło genetyczne) wykazuje wiele zalet technicznych.

Głównym celem projektu jest określenie wpływu nowych i prawdopodobnie związanych ze stwardnieniem zanikowym bocznym (ALS) zmian w sekwencji DNA na funkcjonowanie komórki. Wpływ przypuszczalnych sprawczych wariantów sekwencji na poziomie komórki analizowany będzie na podstawie badania całego transkryptomu metodą sekwencjonowania nowej generacji (RNAseq) wykorzystując pierwotne linie komórkowe fibroblastów skóry izolowanych od około 40 pacjentów z ALS.

Spodziewamy się, że analiza transkryptomu od chorych na ALS z nowymi, rzadkimi wariantami genetycznymi, które kosegregują z fenotypem choroby w rodzinie może prowadzić do identyfikacji nowych szlaków komórkowych, których dysfunkcja jest zaangażowana w patofizjologię ALS.

Badania całego egzomu lub genomu pacjentów z innej niż polska populacji wskazały nowe geny których mutacje prawdopodobnie mają wpływ na rozwój ALS. Planujemy skupić się na tych właśnie fragmentach transkryptomu i sygnałosomu związanych z genami TBK1, TUBA4A, ErbB4 zidentyfikowanych w najnowszych badaniach. Jednym z celów tego projektu będzie weryfikacja udziału genów wymienionych powyżej w patologii ALS.

Metoda RNAseq uzupełnia badania wykorzystujące NGS (oparte na odkrywaniu nowych wariantów genetycznych) o powiązanie z profilem transkrypcyjnym, a tym samym stanowi podstawę do analizy funkcjonalnej z wykorzystaniem linii komórek pochodzących pacjenta. RNAseq umożliwia profilowanie transkrypcji RNA w komórce, w tym alternatywnych transkryptów genów składanych post-transkrypcyjnie, modyfikacji, fuzji genów i zmiany w ekspresji genów.

Rozszyfrowanie profili genomowego i transkrypcyjnego w kontekście rzadkich wariantów genomowych może pozwolić wskazać rozregulowane ścieżki biochemiczne i molekularne prowadzące do poszczególnych fenotypów klinicznych, a to z kolei może być przydatne w procesie identyfikacji markerów diagnostycznych, szybkiego i niezawodnego rozpoznania, a także podejmowania przyszłych strategii terapeutycznych.