

## **Charakterystyka zmian neurorozwojowych oraz behawioralnych u mutantu *tsc2<sup>vu242</sup>* Danio pręgowanego będącego modelem stwardnienia guzowatego**

Stwardnienie guzowate to rzadka choroba genetyczna, spowodowana mutacją w genie *TSC1* lub *TSC2*. U zdrowego człowieka na podstawie informacji zawartych w genach *TSC1* i *TSC2* powstają funkcjonalne białka hamartyna i tuberyna, które razem tworzą kompleks mający za zadanie hamować działanie kinazy mTOR. W stwardnieniu guzowatym kompleks hamujący nie może zostać utworzony, dlatego też obserwujemy nadmierną aktywność szlaku kinazy mTOR, co wiąże się z rozwojem licznych nieprawidłowości w układzie nerwowym. Co istotne pierwsze symptomy choroby pojawiają się już w życiu płodowym i postępują we wczesnym dzieciństwie. Stwardnienie guzowate charakteryzuje się złożonością objawów oraz dolegliwości, na które składają się zarówno zaburzenia neurologiczne dotykające bezpośrednio struktur mózgu (np. epilepsja, nieprawidłowości w strukturze istoty białej), jak i neuropsychiatryczne, a więc dotykające umysł i kryjące się pod pojęciem TANDs (np. upośledzenie umysłowe, zaburzenia zachowania, autyzm). Pomimo licznych badań prowadzonych na modelach zwierzęcych oraz komórkowych, mechanizmy choroby nie są w pełni zbadane, a dostępne leki np. analogi rapamycyny – substancji hamującej kinazę mTOR lub leki przeciwdrgawkowe, jedynie łagodzą jej objawy. Oprócz tego, niezwykle ważnym elementem w patologii stwardnienia guzowatego u ludzi są zaburzenia aktywności synaptycznej w mózgu, które prowadzą do nieustannego pobudzenia lub zahamowania połączeń między neuronami. Zachowanie równowagi między tymi aktywnościami jest kluczowe dla prawidłowych procesów zapamiętywania oraz uczenia się.

W mojej rozprawie doktorskiej modelem stwardnienia guzowatego jest ryba Danio pręgowany z mutacją w genie *tsc2*. Dzięki wykorzystaniu modelu Danio pręgowanego, możliwe jest wykonanie zaawansowanej analizy zmian zachodzących w mózgu oraz zmian w zachowaniu żywych larw już po 24 godzinach od zapłodnienia, co niewątpliwie stanowi duży atut w badaniach przyczyn choroby, która rozwija się już w życiu płodowym.

**Celem mojej rozprawy doktorskiej jest charakterystyka funkcjonowania układu nerwowego na poziomie molekularnym oraz behawioralnym u mutantu *tsc2<sup>vu242</sup>* Danio pręgowanego**, co pozwoli na lepsze poznanie mechanizmów chorobotwórczych w stwardnieniu guzowatym. Aby go osiągnąć zrealizuję następujące cele szczegółowe projektu: 1) wykazanie przydatności mutantu Danio pręgowanego pozbawionego funkcjonalnego białka Tsc2 jako modelu stwardnienia guzowatego, 2) znalezienie substancji o potencjalnym działaniu terapeutycznym korygujących obserwowane w modelu *tsc2<sup>vu242</sup>* symptomy na poziomie komórkowym, neuroanatomicznym oraz na poziomie zachowania 3) zweryfikowanie hipotezy naukowej, iż zaburzenia równowagi aktywności synaptycznych w mózgu mutantu *tsc2<sup>vu242</sup>* przyczyniają się do rozwoju obserwowanych symptomów.

Dotychczas uzyskane w ramach rozprawy doktorskiej wyniki wskazują, że larwy Danio pręgowanego pozbawione prawidłowego białka Tsc2 dobrze odzwierciedlają złożoność objawów stwardnienia guzowatego uwzględniając nieprawidłową morfologię mózgu, problemy z „łącznością” istoty białej, jak również zaburzenia zachowania związane z nadmiernym łękiem czy spektrum autyzmu. Wstępne wyniki moich badań wskazują na zmiany w ekspresji genów ważnych dla zachowania równowagi sygnałów hamujących, dlatego **też istotnym celem szczegółowym mojego projektu doktorskiego jest zbadanie aktywności synaptycznej u mutantu *tsc2<sup>vu242</sup>***. W związku z tym, wykonam przyżyciowe obrazowanie i analizę liczby synaps pobudzających i hamujących w pallium *tsc2<sup>vu242</sup>*, będącym funkcjonalnym odpowiednikiem kory mózgowej u ryb. W realizacji zadania zamierzam wykorzystać innowacyjną technologię opartą na sondach FingR (ang. *Fibronectin intrabodies generated with mRNA display*), dzięki którym będę mogła zwizualizować wybrane białka postsynaptyczne *in vivo*.

Podsumowując, podjęcie tematu aktywności synaptycznej u mutantu *tsc2<sup>vu242</sup>* będzie doskonałym uzupełnieniem dotychczas uzyskanych przeze mnie wyników, a także pozwoli na spojrzenie z szerszej perspektywy na problem zaburzeń w równowadze synaptycznej w stwardnieniu guzowatym. Kompleksowa realizacja mojego projektu doktorskiego posłuży lepszemu zrozumieniu złożonych mechanizmów prowadzących do rozwoju stwardnienia guzowatego, co w perspektywie pozwoli na wskazanie nowych, potencjalnych celów terapeutycznych.