

Pląsawica Huntingtona (HD) jest nieuleczalną, dziedziczną chorobą neurodegeneracyjną. Do głównych objawów HD należą mimowolne ruchy ciała, a następnie postępujący spadek sprawności ruchowej i obniżenie funkcji poznawczych. Choroba ta charakteryzuje się agregacją zmutowanego białka huntingtyny (mHTT), spowodowanej nieprawidłową liczbą powtórzeń CAG kodujących glutaminę w genie *HTT*. Tworzące się agregaty zmutowanego białka z wydłużonym łańcuchem poliglutaminowym są toksyczne dla komórek nerwowych w mózgu człowieka. HD charakteryzuje się obumieraniem średnich neuronów koleczastych (MSNs) w prążkowie (łac. *striatum*), strukturze mózgu odpowiedzialnej za funkcje motoryczne, która jako pierwsza ulega neurodegeneracji. Czym dłuższe powtórzenia CAG, tym szybciej pojawiają się objawy chorobowe. Występują dwie formy HD o różnym początku choroby: forma dorosła, gdzie liczba CAG wynosi powyżej 40 powtórzeń a symptomy pojawiają się w wieku 30 – 50 lat, oraz młodzieńcza charakteryzująca się CAG powyżej 60, a objawy występują poniżej 21 roku życia, a nawet we wczesnym dzieciństwie. Forma chorobowa HD ujawniająca się w wieku dojrzałym stanowi około 95% wszystkich przypadków, a pozostałe to postać młodzieńcza. Obecne badania mają za zadanie zbadać przyczyn HD. Niestety medycyna wciąż nie dysponuje skuteczną metodą leczenia, dlatego też niezbędne jest odkrywanie nowych markerów oraz potencjalnych celów terapeutycznych.

Huntingtyna jest niezbędna w rozwoju mózgu, a jej brak skutkuje śmiercią myszy na etapie embrionalnym. Dlatego podejrzewa się, że HD może mieć swój początek podczas rozwoju mózgu. Ponadto, coraz więcej badań wskazuje, że nie tylko młodzieńcza, ale i dorosła forma HD ma źródło w okresie neurorozwojowym. W naszych badaniach wykorzystujemy ludzkie indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (hiPSCs), otrzymane z reprogramowania fibroblastów od pacjentów z chorobą Huntingtona i kontrolnych, poprzez użycie odpowiednich czynników transkrypcyjnych. iPSCs mają zdolność do różnicowania się do różnych typów komórek, w tym do neuronów. Nasze wstępne wyniki z zastosowaniem progenitorów neuronalnych (NPCs), uzyskanych z różnicowania hiPSCs od pacjentów z HD, wskazują, że tworzone przez nie struktury przypominające rozety, mają poważnie zaburzoną budowę, w porównaniu z kontrolnymi NPCs. Podobne zmiany w NPCs zostały wykazane w modelach zwanych „organoidami mózgowymi”, które hodujemy w laboratorium. HD może być również związana z dysfunkcją jednego z ważniejszych połączeń mózgowych pomiędzy korą mózgową i prążkiem, nazywanego siecią korowo-striatalną, którego zaburzenie może prowadzić do degeneracji prążkowiego.

W projekcie stawiamy hipotezę, że wczesne zaburzenia neurorozwojowe mózgu spowodowane przez różną długość powtórzeń CAG w genie *HTT* występujące w obu typach HD inicjują zaburzenia sieci korowo-striatalnych. W celu zrozumienia, czy patologia HD rozpoczyna się podczas rozwoju mózgu, zamierzamy uzyskać nowy model ludzkiego mózgu zwany „assembloidami korowo-striatalnymi”. Będą one hodowane na szalce w warunkach *in vitro* w laboratorium. Model ten zostanie zastosowany do zbadania wpływu patologii neurorozwojowych indukowanych przez mHTT na dysfunkcję sieci korowo-striatalnych, co z kolei może prowadzić do dysregulacji sygnalizacji wapniowej, zaburzeń synaptycznych, a w końcu do aktywacji neurozapalenia i śmierci MSNs.

Do realizacji tych badań zastosujemy najbardziej innowacyjne i przełomowe osiągnięcia ostatnich lat w dziedzinie komórek macierzystych, inżynierii tkankowej i neurobiologii molekularnej. Jednym z nich będzie uzyskanie organoidów i assembloidów mózgowych pochodzących z linii hiPSC od pacjentów z HD i kontrolnych. W naszych badaniach oprócz tych linii do hodowli assembloidów wykorzystamy linie hiPSC stworzone przy użyciu technologii CRISPR-Cas9 zwanej „nożyczkami genetycznymi”. Te zmodyfikowane linie zwane są „izogenicznymi liniami hiPSC”. Mają one tę zaletę, że mogą być wykorzystane do badania jedynie efektu mutacji mHTT, bez innych możliwych mutacji, które mogą być obecne w komórkach pochodzących od różnych pacjentów. Izogeniczne linie HD i kontrolne będą wykorzystane do potwierdzenia naszych przewidywanych obserwacji o wpływie mHTT na rozpoczęcie patologii neurorozwojowej w HD. Ponadto, zastosowanie strategii edycji genów pozwoliło nam uzyskać organoidy wzbogacone w komórki o charakterze mikrogleju, czyniąc je doskonałym modelem do badania chorób neurorozwojowych, takich jak HD. Dodatkowo, wykorzystując sekwencjonowanie RNA pojedynczych komórek (scRNAseq) planujemy wykazać zaburzenia transkrypcji genów w sieciach korowo-striatalnych w HD.

Podsumowując, proponowane badania, które będą prowadzone we współpracy z doświadczonymi naukowcami z zagranicy, dostarczą nowej wiedzy na temat mechanizmów molekularnych, które mogą być odpowiedzialne za początek choroby Huntingtona. Wyniki eksperymentów z wykorzystaniem assembloidów pomogą zrozumieć zaburzenia procesów neurorozwojowych leżących u podstaw młodzieńczej i dojrzałej formy choroby. Dzięki temu realizacja projektu przyczyni się do odkrycia nowych potencjalnych celów terapeutycznych, a zatem do wynalezienia nowych leków w HD. Dodatkowo, assembloidy pochodzące od pacjentów HD mogą być również przydatne do tworzenia spersonalizowanych modeli chorobowych, a tym samym spersonalizowanych strategii leczenia.