

Zespół PACS2 to ultra-rzadka choroba, która objawia się głównie w postaci neurologicznej. Typowe symptomy to napady padaczkowe w początkowych latach życia, globalne opóźnienie rozwoju, często z cechami autystycznymi, zmiany dysmorficzne twarzy oraz dysgeneza mózdzku. Niektórzy pacjenci posiadają dodatkowe objawy, takie jak malformacje kości dłoni, problemy oczne, zaburzenia kardiologiczne czy problemy z układem moczowo-płciowym. Zespół został po raz pierwszy opisany w 2018 roku przez Olson i jej zespół, a do tej pory zdiagnozowano go u około 100 osób na całym świecie.

Przyczyną zespołu PACS2 są mutacje *de novo* w genie PACS2, konkretnie warianty E209K lub E211K. Mutacje te prowadzą do zmian w sekwencji aminokwasowej białka PACS2, zmiany jego ładunku, co z kolei wpływa na jego funkcje. PACS2 pełni w komórce rolę transportera innych białek, pośrednio regulując wiele kluczowych procesów, takich jak apoptoza (programowana śmierć komórki), odpowiedź na stres komórkowy oraz interakcje między retikulum endoplazmatycznym (RE) a mitochondriami. Dotychczas opublikowano zaledwie trzy prace, które analizowały wpływ tych mutacji na molekularne właściwości białka. Badacze zaobserwowali wzmożoną interakcję zmutowanego białka PACS2 z innymi białkami, takimi jak białko 14-3-3ε, sirtuina 1 czy TRPV1. Dodatkowo, zaobserwowano zwiększoną podatność komórek na apoptozę indukowaną staurosporyną (stresor retikularny) oraz zaburzenia w przepływie jonów wapniowych z RE do mitochondriów, co prowadzi do ich nagromadzenia w cytoplazmie.

Wspomniane badania dostarczyły cennych informacji na temat patomechanizmu zespołu PACS2. Jednakże, nie odzwierciedlają one dobrze stanu rzeczywistego pacjentów. Badania te wykorzystywały komórki nowotworowe z nadmierną ekspresją zmutowanego białka. W związku z czym, w naszych badaniach proponujemy nowy, dokładniejszy model wykorzystujący indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (iPSC) uzyskane od 3 pacjentów z zespołem PACS2 oraz ich klony, w których zmutowany gen został zastąpiony prawidłowym. Jest to model, który nie był wcześniej wykorzystywany w badaniach nad tą chorobą.

W naszych wcześniejszych badaniach, na mysim modelu zespołu PACS2, zaobserwowaliśmy obniżoną ekspresję białek połączeń ścisłych w hipokampie, co może wskazywać na zmiany przepuszczalności bariery krew-mózg. Uszkodzenie tej bariery prowadzi do wzrostu ilości albuminy w ośrodkowym układzie nerwowym, zmian w ekspresji kanałów potasowych oraz aktywacji astrocytów. Udało nam się zaobserwować ten mechanizm w naszych danych, dlatego zdecydowaliśmy się na różnicowanie iPSC do astrocytów. Astrocyty odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy ośrodkowego układu nerwowego i wydają się być istotne w patogenezie zespołu PACS2. Aktywowane astrocyty mogą wywoływać neurozapalenie i nasilać napady padaczkowe. Dane z literatury oraz nasze wyniki sugerują, że mitochondria i ich dysfunkcje mogą odgrywać kluczową rolę w aktywacji astrocytów oraz leżeć u podstawy patologii zespołu PACS2. Wykazaliśmy m.in. zmniejszenie miejsc kontaktu między RE a mitochondriami, zmiany w ekspresji białek kotwiczących mitochondria oraz zmniejszenie przepływu jonów wapniowych do mitochondriów.

W związku z powyższym, w niniejszym projekcie proponujemy oznaczenie współwystępowania RE-mitochondria oraz poziomu jonów wapniowych w cytoplazmie. Akumulacja jonów wapniowych może prowadzić do aktywacji astrocytów, które z kolei mogą wydzielać liczne cytokiny i chemokiny. Jedną z naszych hipotez jest, iż astrocyty z mutacją genu PACS2 będą miały zmieniony profil sekretomu, dlatego też planujemy ocenić poziomy wybranych czynników prozapalnych, chemotaktycznych, markerów aktywacji astrocytów oraz poziomy jonów potasowych, które również mogą w znaczny sposób modulować napady padaczkowe. Ponadto, zamierzamy zbadać podatność komórek z zespołem PACS2 na stymulację proapoptotyczną zależną od receptorów śmierci oraz białka PACS2, a także na bodźce niezależne od tych białek, które wywołują bezpośrednie efekty mitochondrialne.

Obecnie nie istnieje przyczynowe leczenie zespołu PACS2, co podkreśla pilną potrzebę badań mających na celu opracowanie skutecznych terapii. W związku z tym, planujemy ocenić wpływ dimetylotryptaminy (DMT) na komórki z zespołem PACS2 oraz wpływ tego związku na komórki dodatkowo potraktowane stymulatorami apoptozy. DMT to naturalny związek, który wykazuje zdolność do regulacji funkcji mitochondriów. Ostatnie badania z użyciem DMT w modelach chorób neurodegeneracyjnych wykazały poprawę funkcji poznawczych i pozytywny wpływ na procesy związane z mitochondriami. Nasza grupa jest uprawniona do prowadzenia badań z użyciem neuroplastogenów, co daje nam unikalną możliwość zbadania ich efektów w kontekście zespołu PACS2. Co więcej, w przypadku uzyskania pozytywnych wyników badań *in vitro*, jesteśmy gotowi do szybkiego przejścia do badań na modelach zwierzęcych zespołu PACS2, które również są dostępne dla naszego zespołu. Proponowane działania mają zatem nie tylko znaczenie naukowe, ale również potencjalny wpływ społeczny, szczególnie dla pacjentów z zespołem PACS2 i ich rodzin.