

Streszczenie

Choroba Huntingtona (HD) to choroba neurodegeneracyjna charakteryzująca się narastającą w czasie dysfunkcją neuronów i ich utratą w obrębie centralnego układu nerwowego. Degeneracja neuronów początkowo obejmuje prążkowie, a szczególnie średniej wielkości neurony GABAergiczne, aby z postępem choroby rozszerzyć się na głębsze warstwy kory mózgowej. Proces ten dotyczy przede wszystkim obszarów mózgu uczestniczących w koordynacji procesów poznawczych oraz kontrolujących poruszanie się i emocje. Zakłócenie funkcjonowania tych ośrodków mózgowych wywołuje objawy chorobowe, które obejmują: niekontrolowane ruchy (pląsawicę), pojawienie się drżenia rąk i nóg, zmniejszenie napięcia mięśni, otępienie, postępujące zaburzenia pamięci, zmiany osobowości, a także depresję. Przebieg choroby jest powolny i postępujący, a długość życia pacjentów po wystąpieniu pierwszych objawów waha się od 15 do 20 lat. Mimo, iż podłoże molekularne HD odkryto już w 1993 roku, nadal nie istnieją skuteczne strategie terapeutyczne, pozwalające na zatrzymanie jej rozwoju. Nie ulega zatem wątpliwości, że zrozumienie molekularnych podstaw HD jest kluczowe dla stworzenia nowych, skutecznych terapii, pozwalających na przeciwdziałanie zmianom zachodzącym w przebiegu HD w ośrodkowym układzie nerwowym.

HD zaliczana jest do chorób ekspansji glutaminowych, gdyż jej przyczyną jest zwiększenie liczby kodonów CAG w pierwszym egzonie genu *HTT*, który koduje białko huntingtynę (Htt). Powstaje w ten sposób zmutowana wersja białka (mHtt), z wydłużonym ciągiem reszt glutaminy w obszarze końca aminowego. Mechanizm toksycznego działania mHtt nie został dotychczas wyjaśniony. Co więcej, do tej pory nie udało się ustalić, czy działanie to wynika z wyeliminowania efektu Htt, czy też jest skutkiem pojawienia się nowej funkcji mHtt. Nie ulega jednak wątpliwości, że istotną rolę w patomechanizmie HD odgrywa dysfunkcja mitochondriów, która pojawia się wcześniej w rozwoju HD i poprzedza w czasie inne zmiany.

Powstanie i właściwe funkcjonowanie mitochondriów w dużej mierze zależą od prawidłowego importu białek mitochondrialnych, a także wymiany metabolitów z cytoplazmą. Podstawową rolę w wymianie metabolitów między mitochondriami i cytoplazmą odgrywa zależny od potencjału kanał o selektywności anionowej (kanał VDAC). Ta pozornie prosta funkcja białka VDAC przekłada się jednak na jego fundamentalne znaczenie dla funkcjonowania mitochondriów. Dlatego też kanał ten nazywany jest regulatorem, a nawet zarządcą, funkcji mitochondriów.

Celem niniejszej pracy było sprawdzenie czy białko VDAC jest istotne dla działania, Htt i/lub mHtt w komórkach, co w konsekwencji wskazywałoby na jego udział w patogenezie HD. Postanowiono także sprawdzić znaczenie obecności izoform białka VDAC dla obserwowanych efektów ekspresji Htt i mHtt. W badaniach stosowano dwa modele tej choroby. Pierwszy z nich oparty jest na dostępnych szczerzych komórkach PC12, podczas gdy drugi został

skonstruowany na potrzeby niniejszej pracy i oparty jest na drożdżach *Saccharomyces cerevisiae*. Oba te modele umożliwiają kontrolowaną ekspresję Htt i mHtt, przy czym drugi z nich umożliwia także badanie wpływu tej ekspresji w obecności bądź przy braku danej izoformy ludzkiego białka VDAC. Modele te wykorzystano dla zbadania wpływu ekspresji Htt i mHtt na przeżywalność komórek, funkcje bioenergetyczne mitochondriów, a także właściwości kanałowe białek VDAC.

Otrzymane wyniki wskazują, że obecność białka VDAC ma znaczenie dla analizowanych efektów ekspresji Htt i mHtt. Co więcej, znaczenie ma także izoforma badanego białka VDAC. Stwierdzono na przykład, że ekspresja mHtt w komórkach PC12, w których dominuje ilościowo izoforma VDAC1, jak i w komórkach modelu drożdżowego z ekspresją VDAC1 człowieka skutkuje zmniejszeniem przeżywalności tych komórek, przy czym w przypadku komórek drożdży efekt ten wymaga obecności stresu temperaturowego. Co ciekawe, ów stres temperaturowy odpowiada temperaturze organizmu człowieka (tj. 37°C), co może mieć wpływ na poziom agregacji mHtt. Otrzymane wyniki uzyskane dla komórek modelu drożdżowego z ekspresją hVDAC1 wydają się potwierdzać kluczowe znaczenie tej izoformy VDAC dla efektu mHtt na funkcjonowanie mitochondriów. Pozostaje to w związku z wynikami uzyskanymi dla preparatów VDAC izolowanych z komórek PC12, w przypadku których wykazano, że ekspresja mHtt może prowadzić do zmian aktywności kanałowej ssaczego białka VDAC1, polegających na zmienionym rozkładzie przewodnictwa i zmniejszonej zależności od potencjału.

Podsumowując, otrzymane wyniki sugerują istotną rolę izoformy VDAC1 w patomechanizmie HD. Porównanie wyników otrzymanych dla modelu drożdżowego i modelu opartego na komórkach PC12 pozwala założyć, iż ssacza izoforma VDAC1 jest miejscem bezpośredniego lub pośredniego oddziaływania mHtt i warunkiem pojawienia się cytotoksycznego efektu tego białka. Co więcej, skonstruowany drożdżowy model HD może stanowić punkt wyjścia dla dalszych badań nad patomechanizmem tej choroby.