

Received: 2015.12.01
Accepted: 2016.09.15
Published: 2016.12.31

Patofizjologia i podłoże molekularne wybranych zaburzeń metabolicznych choroby Huntingtona

Pathophysiology and molecular basis of selected metabolic abnormalities in Huntington's disease

Jolanta Krzysztoń-Russjan

Zakład Biochemii i Biofarmaceutyków, Narodowy Instytut Leków w Warszawie

Streszczenie

Choroba Huntingtona (HD), to nieuleczalna, wyniszczająca choroba neurodegeneracyjna o znanym podłożu genetycznym, dziedziczona w sposób autosomalny dominujący. Mutacja genu *HTT* kodującego huntingtynę wiąże się z wydłużeniem, powyżej 35 powtórzeń, fragmentu polimorficznego złożonego z trypletu CAG. Produktem zmutowanego genu *mHTT* jest zmienione białko z wydłużonym fragmentem poli-Q, o najwyższym poziomie ekspresji w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) oraz zróżnicowaniem ekspresji poza OUN. W OUN wykazano drastyczną utratę neuronów prążkowania i głębszych warstw kory mózgowej, a poza OUN utratę masy mięśniowej, spadek masy ciała, a także dysfunkcję wielu narządów. Objawy kliniczne obejmują zaburzenia neurologiczne: ruchy płasawicze z dystonią, zaburzenia mowy i połykania oraz psychiczne: zaburzenia emocjonalne i upośledzenie procesów poznawczych. Są spowodowane zmianami wielu procesów komórkowych, wywołującymi zaburzenia m.in.: transmisji sygnału, dysfunkcji mitochondriów i upośledzenia metabolizmu energetycznego, a także wzrostu markerów stresu oksydacyjnego na poziomie ekspresji genów i białek oraz modyfikacji ich funkcji. Upośledzenie procesów energetycznych objawiających się obniżeniem wytwarzania ATP wykazano zarówno w ośrodkowym układzie nerwowym, jak i poza OUN na poziomie glikolizy, cyklu Krebsa i łańcucha oddechowego. Często opisywano korelację wzrostu upośledzenia metabolizmu energetycznego ze wzrostem liczby powtórzeń CAG w *HTT* i z czasem trwania choroby.

Badania metabolizmu energetycznego to początek poszukiwań czułych biomarkerów oraz nowych opcji terapeutycznych do wczesnego zastosowania w celu zahamowania rozwoju procesów patologicznych w HD. Identyfikacja zmian patologicznych na poziomie komórkowym poza OUN wyprzedzających zmiany neurologiczne wymaga weryfikacji zasad postępowania diagnostycznego i terapeutycznego w HD.

Słowa kluczowe:

choroba Huntingtona • patofizjologia • podłoże molekularne • zmiany metabolizmu

Summary

Huntington's disease (HD) is an incurable, devastating neurodegenerative disease with a known genetic background and autosomally dominant inheritance pattern. *HTT* gene mutation (*mHTT*) is associated with polymorphic fragment elongation above 35 repeats of the CAG triplet. The *mHTT* product is an altered protein with a poly-Q elongated fragment, with the highest expression determined in the central nervous system (CNS) and with differentiated expression outside the CNS. A drastic loss of striatal and deeper layers of the cerebral cortex neurons was determined in the CNS, but muscle and body weight mass loss with dysfunction of many organs was also observed. HD symptoms include neurological disturbances, such as choreal movements with dystonia, speech and swallowing impairments, and additionally a

variety of psychiatric and behavioral symptoms with cognitive decline have been described. They are the result of disturbances of several cellular pathways related to signal transmission, mitochondrial dysfunction and energy metabolism impairment shown by gene and protein expression and alteration of their functions. Impairment of energy processes demonstrated by a decrease of ATP production and increase of oxidative stress markers was determined in- and outside of the CNS in glycolysis, the Krebs cycle and the electron transport chain. A correlation between the increase of energy metabolism impairment level and the increase in number of CAG repeats in *HTT* has often been described.

The energy metabolism study is an initial stage of sensitive biomarkers and a new therapeutic investigative option for early application in order to inhibit pathological processes in HD. Identification of pathological changes outside the CNS requires a reevaluation of diagnostic and therapeutic rules in HD.

Key words: Huntington's disease • pathophysiology • molecular basis • energy metabolism changes

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1227557>

Word count: 4000
Tables: –
Figures: 3
References: 65

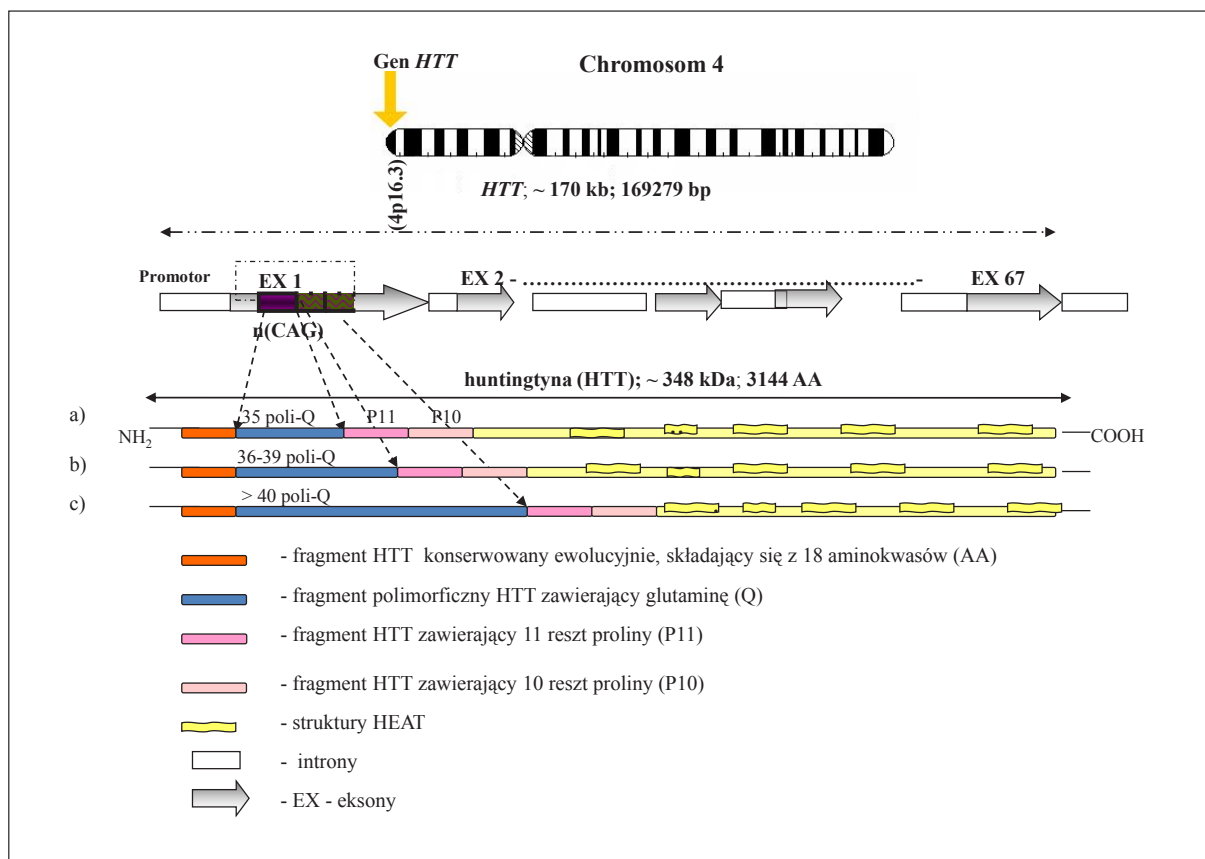
Adres autorki: dr n. med. Jolanta Krzysztoń-Russjan, Zakład Biochemii i Biofarmaceutyków, Narodowy Instytut Leków, ul. Chełmska 30/34; 00-725 Warszawa; e-mail: j.russjan@nil.gov.pl;

Wykaz skrótów: **BCAA** – aminokwasy rozgałęzione (branched-chain amino acids); **BDNF** – neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (brain-derived neurotrophic factor); **GABAR** – receptor kwasu γ -aminomasłowego (γ -aminobutyric acid receptor); **GAPDH** – dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase), **HAP1** – białko towarzyszące HTT (htt-associated protein1); **HD** – choroba Huntingtona (Huntington's disease); **HDAC** – deacetylaza histonowa (histone deacetylase); **HEAT** – czynnik 3 wydłużania huntingtyny (huntingtin, elongation factor 3, PR65/A subunit of protein phosphatase 2A and mTor); **HIP1** – białko współdziałające z HTT (htt-interacting protein1); **3-HK** – 3-hydroksykinurenina; **HTT** – gen kodujący prawidłowe białko huntingtyny; **HTT** – białko huntingtyny (huntingtin protein); **KGDH** – dehydrogenaza α -ketoglutaranowa (α -ketoglutarate dehydrogenase), **KMO** – monooksygenaza kinureniny (kynurenino-3-monooxygenase); **KP** – szlak kinureniny (kynurenine pathway); **KYN** – L-kinurenina; **KYNA** – kwas kinureninowy; **MAPKs** – kinazy białkowe aktywowane przez mitogeny (mitogen-activated protein kinases); **mHTT** – gen kodujący nieprawidłowe białko huntingtyny, zawierający mutację (mutated *HTT* gene); **mHTT** – nieprawidłowe białko huntingtyny, zawierające patologicznie wydłużony fragment poliglutaminowy (poli-Q); **MSN** – średnie neurony kolczyste (medium spiny neurons); **mTOR** – ssaczy cel rapamycyny (mammalian target of rapamycin); **NGF** – czynnik wzrostu nerwów (nerve growth factor); **NMDAR** – receptor N-metylo D-asparaginianu (N-methyl D-aspartate receptor); **OUN** – ośrodkowy układ nerwowy; **PACIN1** – (protein kinase C and casein kinase substrate in neurons 1); **PGC-1 α** – czynnik transkrypcyjny – koaktywator receptora aktywowanego przez proliferatory peroksysomów (PPAR γ -1 α – peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 γ); **PPARGC1** – gen kodujący PGC-1 α ; **PRR** – region bogaty w prolinę (prolin rich region); **QUIN** – kwas chinolinowy; **REST/NRSF** – czynnik transkrypcyjny (repressor element-1 transcription factor/neuron restrictive silencer factor).

WSTĘP

Choroba Huntingtona (HD), to autosomalnie dominująco dziedziczna choroba neurodegeneracyjna związana z mutacją genu *HTT* [26,27]. HD po raz pierwszy została opisana w 1872 r. przez Georga Huntingtona jako dziedziczna postać płasawicy [55].

W przebiegu HD stopniowo pojawiają się zróżnicowane zaburzenia psychiczne, np.: otępienie o charakterze podkorowym, depresja, zmiany zachowania, a także zaburzenia neurologiczne, np.: utrata koordynacji ruchowej, charakterystyczne mimowolne ruchy płasawicze z dystonią, a także zaburzenia polykiania i mowy [47,58,65]. Kolejność pojawiania się poszczególnych zaburzeń nie



Ryc. 1. Schemat budowy genu *HTT* i białka HTT, a) prawidłowy region polimorficzny zawierający do 35 reszt glutaminowych Q; b) i c) nieprawidłowe regiony polimorficzne zawierające ≥ 36 reszt glutaminowych Q (poli-Q)

jest określona, a początek i stopień zaawansowania choroby są określane na podstawie badania neurologicznego oraz oceny możliwości funkcjonalnych pacjenta w oparciu o skalę TFC należąca do skal UHDRS [43].

Choroba Huntingtona należy do schorzeń rzadkich, częstość jej występowania na świecie waha się 0,5-13,7 przypadków na 100 000 osób [54,55]. U nosicieli mutacji *HTT*, objawy choroby najczęściej pojawiają się w wieku średnim między 35-50 r.ż, rzadziej u dzieci i młodzieży lub osób starszych [54]. Okres trwania choroby liczony od wystąpienia zaburzeń motorycznych wynosi średnio 15-20 lat. Choroba jest wciąż nieuleczalna, stosowane leczenie objawowe ma na celu łagodzenie objawów neurologicznych i psychiatrycznych [54,61,65]. Podejmowane są także próby poszukiwania i stosowania terapii neuroprotektoryjnych, zarówno w badaniach z zastosowaniem modeli doświadczalnych HD, jak i z udziałem pacjentów w programach badawczych [18,21,44,54,65].

U przedobjawowych nosicieli mutacji genu *HTT* szczególnie często opisuje się znaczną utratę masy ciała i tkanki mięśniowej jeszcze przed wystąpieniem zaburzeń motorycznych, mimo stosowania zbilansowanej kalorycznie diety [43,47,63]. W pracy podjęto analizę wpływu mutacji na metabolizm, zwłaszcza metabolizm energetyczny i ocenę jego znaczenia w badaniach bio-

markerów, ważnych ze względów diagnostycznych, jak również w poszukiwaniu skutecznych terapii opóźniających rozwój HD.

CHARAKTERYSTYKA MUTACJI, DIAGNOSTYKA GENETYCZNA

W 1993 r. zidentyfikowano gen związany z chorobą Huntingtona, określony skrótem *HTT* (wcześniej stosowano także skróty *IT15* - Interesting Transcript 15 lub *HD*) [23,24,46]. Do sklonowania i zlokalizowania genu zawierającego mutację przyczyniły się badania genetyczne analizy sprzężeń przeprowadzone z udziałem osób chorych, z rodzin pochodzących z regionu jeziora Maracaibo (Wenezuela) [24]. Analizy rodowodów osób spokrewnionych umożliwiły określenie sposobu dziedziczenia mutacji genu *HTT* jako autosomalny, dominujący [24,28,29].

Gen *HTT* o wielkości ok. 170 kb (169279 bp) jest umiejscowiony na krótkim ramieniu 4 chromosomu (4p16.3) i składa się z 67 eksonów (ryc. 1) [23,24]. Ekson 1 zawiera region polimorficzny ze zmienną liczbą powtórzeń trypletu CAG kodującego glutaminę (Q). Mutacja dotyczy najczęściej pojedynczego allelu *HTT* i polega na zwiększeniu liczby powtórzeń trypletu, powyżej 35. Liczba powtórzeń CAG w allelach prawidłowych mieści się w zakresie 6-35, przy czym zakres 27-35 jest związany ze zwiększonym ryzykiem pojawienia się mutacji

w następnym pokoleniu [29,54]. Zmutowane allele *HTT* z liczbą powtórzeń CAG w zakresie 36-39 mogą nie przenikać w każdej sytuacji, co oznacza możliwość wystąpienia objawów choroby jedynie u części osób w późniejszym wieku [54]. W chorobie Huntingtona, podobnie jak w innych chorobach neurodegeneracyjnych i nerwowo-mięśniowych związanych ze wzrostem liczby powtórzeń trójek nukleotydowych w zmutowanym genie, występuje zjawisko antycypacji, czyli wcześniejszego pojawiania się choroby w następnych pokoleniach z coraz bardziej nasilonymi objawami [48,54]. W czasie spermatogenezy i oogenezy u części komórek rozrodczych wykazano niestabilność nieprawidłowych ciągów powtórzeń CAG, określaną ekspansją trójek nukleotydowych [48,52,54,55].

Liczba powtórzeń CAG powyżej 39 jest uznana za patologiczną i wiąże się z wystąpieniem choroby u wszystkich nosicieli tej mutacji [54,55]. Liczba powtórzeń CAG>60 jest charakterystyczna dla dziecięcej i młodzieńczej postaci HD [2,54,63]. W badaniach epidemiologicznych Gussella i wsp., wykazano odwrotną korelację liczby powtórzeń CAG w regionie polimorficznym *HTT* z wiekiem pojawienia się objawów klinicznych [28,61]. Jednak nie zaleca się prognozowania wieku zachorowania w oparciu o liczbę powtórzeń CAG, ponieważ wykazano zróżnicowanie wieku wystąpienia choroby u osób z jednakową liczbą powtórzeń CAG. Wykazano również wpływ wielu czynników środowiskowych oraz genetycznych (tzw. modyfikatorów genetycznych) na wiek wystąpienia objawów choroby [28,29,32,48,62].

BUDOWA I ROLA HUNTINGTINY (HTT) W KOMÓRCIE

Huntingtyna to białko cytoplazmatyczne o masie cząsteczkowej 348 kDa, zbudowane z 3144 aminokwasów tworzących wiele domen odpowiedzialnych za różne funkcje i aktywność [5,23,38]. Na N-końcu *HTT* zidentyfikowano 18-aminokwasowy fragment (N18) o strukturze amfipatycznej α -helisy ewolucyjnie konserwowanej w obrębie kręgowców (ryc. 1) [5], który poprzedza polimorficzny fragment poli-Q. U osób zdrowych, niebędących nosicielami mutacji w *HTT*, długość fragmentu polimorficznego białka jest zróżnicowana i waha się w zakresie 11-34 reszt glutaminy. W pobliżu fragmentu poli-Q występują dwie domeny bogate w prolinę (PRR) poli-P11, poli-P10, które są odpowiedzialne za zmianę konformacji i aktywności huntingtyny [5]. Huntingtyna bierze udział w endocytozie i wewnątrzkomórkowym, pęcherzykowym transporcie różnych cząsteczek przez interakcję PRR z domeną SH3 endofiliny3 (SH3GL3) i syndapiny (PACSIN1) [23]. Wykazano koekspresję białek SH3GL3, PACSIN1 i *HTT* w neuronach m.in. prądkowia oraz innych strukturach mózgu, a poza OUN także w jądrach. Wykazano ponadto odwracalne wiązanie się huntingtyny z białkami cytoszkieletu odpowiedzialnymi za transport wewnątrzkomórkowy białek oraz większych cząsteczek, np. wirusów, a także z białkami mikrotubul, poprzez: kinezynę, białko HAP1, dynaktynę, dyneinę, HIP1, HIP14, PACSIN1 i PSD-95 [12]. Białka motoryczne

mikrotubul są zarówno białkami strukturalnymi, jak i czynnościowymi, hydrolizującymi ATP i ułatwiający ruch cząsteczek wzdłuż cytoszkieletu. *HTT* wiąże się także z białkami wczesnych i późnych endosomów, regulującymi neuronalne sygnały komórkowe, związane z tworzeniem synaps, przeżyciem lub śmiercią neuronów [12,23,24,40]. *HTT* poprzez domenę PRR łączy się także z domeną tryptofanową (WW) białka HYP/FPB11 biorącego udział w składaniu fragmentów pre-RNA podczas obróbki produktów genów po transkrypcji (splicing), podnosząc wydajność składania fragmentów RNA genów kodujących białka zawierające fragmenty polimorficzne, mające znaczenie w procesach neurodegeneracji [31,32].

Na podstawie analizy sekwencyjnej *HTT* wyłoniono ponadto wiele innych domen o strukturze drugo- lub trzeciorzędowej, m.in. HEAT, które są rozproszone w pozostałym fragmencie białka [32,37,39]. Opisano ponad 100 interakcji struktur HEAT huntingtyny z wieloma białkami, modyfikującymi aktywność *HTT*, a także z białkami zaangażowanymi w metabolizm energetyczny, zawierającymi podobne struktury [23,32,39].

Wykazano ponadto bezpośrednie lub pośrednie interakcje *HTT* z wieloma białkami o zróżnicowanym zakresie działania, np.: z białkami motorycznymi, cytoszkieletu, biorącymi udział w transporcie pęcherzykowym, np. kinezyną, dyneiną, miozyną, klatryną, czy aktyną, z czynnikami transkrypcyjnymi: CtBP, NF- κ B, p53, TAFII130, CREB, aktywatorami i koaktywatorami transkrypcji: CA150, CBP, NCOR, SP1, TBP zaangażowanymi w metabolizm energetyczny, czy stres oksydacyjny, a także z białkami kanałów jonowych VDAC1-3 i z białkami biorącymi udział w transdukcji sygnałów międzykomórkowych, np. z: kalmoduliną, CIP4, FIP2, GRB2, IP₃,1, SH3GL3 i RasGAP [12,23,32].

STRUKTURA I FUNKCJE NIEPRAWIDŁOWEGO BIAŁKA *HTT* (mHTT)

Struktura przestrzenna regionu polimorficznego huntingtyny, zawierająca 17 reszt glutaminowych (poli-17Q), przybiera różne konformacje i oprócz α -helisy, może także występować w postaci przypadkowych zwojów, czy wydłużonych pętli [31,34]. W postaci zagregowanej fragment ten najczęściej przyjmuje strukturę β -harmonijki. W badaniach biofizycznych rozpuszczalnych monomerów poli-Q o różnych długościach, wykazano różnorodność przybieranych postaci, np.: konformacji α -helisy, struktury β -harmonijki, czy wydłużonej helisy [5,23,34]. Na podstawie metod obliczeniowych zaprojektowano występowanie różnych form przestrzennych fragmentu poli-Q, od przypadkowych form helikalnych, poprzez α -, μ -, π -helisę, do struktury α - i β -harmonijki. Przypuszcza się, że wydłużenie fragmentu poli-Q wpływa na wydłużenie pętli helisy i ułatwia powstawanie agregatów białka *HTT*. mHTT jest przyczyną dysfunkcji komórek i neurodegeneracji występującej w przebiegu choroby Huntingtona oraz wtórnych zaburzeń, składających się na złożony obraz kliniczny. Nieprawidłowe białko mHTT traci funkcje białka prawidłowego opisane wyżej i zyskuje nowe, co

wykazano w badaniach wielu modeli doświadczalnych HD [22,32]. Wydłużenie regionu poli-Q w wyniku mutacji *HTT* (powyżej 35 reszt glutaminy), zmienia konformację i funkcje białka, wpływając na zaburzenia procesu transkrypcji wielu genów. mHTT blokuje transport aksonalny, pozbawiając fizjologicznych funkcji neuronów i aktywuje proces apoptozy. Uruchomienie apoptozy może następować pod wpływem kilku mechanizmów, np. przez uruchomienie kaskady kinaz białkowych aktywowanych przez mitogeny (MAPKs) lub w wyniku długoterminowego stresu oksydacyjnego obniżającego aktywność kinazy mTOR, czy przez aktywację białek stresu związanych z retikulum endoplazmatycznym [4,39]. Nieprawidłowa huntingtyna ponadto zaburza działanie proteasomu, procesy ubikwitynacji, uzyskanie równowagi jonów Ca^{+2} podczas przekazywania sygnału na synapsach oraz wpływa na zmianę aktywności wielu białek zaangażowanych w neurotransmisję [14,27]. W badaniach *post mortem* ludzkich neuronów z mutacją w *HTT* oraz neuronów modelu mysiego HD, wykazano obniżony poziom neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego BDNF, stymulującego funkcjonowanie i tworzenie się neuronów w mózgu [7,40,59,62]. Wykazano, że obniżenie stężenia BDNF jest bezpośrednim skutkiem aktywności nieprawidłowej huntingtyny. W jądrach komórek nerwowych wykazano obecność nierozpuszczalnych konglomeratów mHTT i kompleksu REST/NRSF, który hamuje ekspresję promotora *BDNFII*, obniżając poziom czynnika BDNF i przyspieszając obumieranie neuronów [7,51,59]. Uważa się, że przywrócenie prawidłowego poziomu BDNF mogłoby poprawić funkcjonowanie i przeżywalność neuronów, dlatego poszukuje się substancji neuroprotektynnych, stymulujących wzrost poziomu BDNF. Wykazano, że prawidłowa huntingtyna, a także cystamina i białko HSP1b, podnoszą stężenie BDNF [5,7,19,62]. Aktywna, prawidłowa huntingtyna przemieszcza się w komórce między różnymi kompartmentami, zaś przemieszczanie mHTT jest utrudnione. Dochodzi bowiem do jej kumulacji w jądrze, co jest przyczyną rozregulowania procesów fizjologicznych i cytotoxycywności [5,31,53].

W badaniach z zastosowaniem zróżnicowanych genetycznie modeli HD wykazano wpływ obniżenia stężenia huntingtyny na zmiany rozmieszczenia i morfologii mitochondriów, retikulum endoplazmatycznego i aparatu Golgiego [12,22,38,53].

Poznanie mechanizmów działania prawidłowego i nieprawidłowego białka HTT oraz zależności procesów komórkowych jest podstawą do identyfikacji podstawowych miejsc docelowego działania leków hamujących procesy patologiczne w HD [21,39,40].

ZABURZENIA METABOLIZMU ENERGETYCZNEGO

Badania, zwłaszcza ostatniej dekady przeprowadzone z udziałem osób z HD, a także komórkowych i zwierzęcych modeli HD, wskazują na zaburzenia wydajności procesów energetycznych na poziomie komórkowym [4,11,17,21,27,35,36,40,42,46,56,57,64].

Wykazano rozregulowanie procesów oddychania komórkowego nie tylko w OUN, ale także w komórkach wielu narządów, a nawet w limfocytach, czy frakcji komórek jądrzastych krwi [35,36,53]. U osób z HD opisano upośledzenie procesów energetycznych na poziomie glikolizy (cytoplazma), cyklu Krebsa (macierz mitochondrium) i łańcucha oddechowego (wewnętrzna błona mitochondrium), objawiających się spadkiem wytwarzania ATP [11,17,27,42,56]. Badania struktur mózgu przeprowadzone z zastosowaniem pozytonowej tomografii emisyjnej, podjęte w celu określenia obszaru zmian metabolizmu energetycznego, wykazały po podaniu 18-fluorodeoksyglukozy u osób w okresie przedobjawowym i we wczesnym etapie choroby spadek wykorzystania glukozy w jądrze ogoniastym i skorupie, co miało poprzedzać utratę neuronów z tych obszarów [42]. W badaniach z wykorzystaniem spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego osób z objawami HD opisano wzrost stężenia mleczanu w korze mózgowej i zwojach podstawy, sugerujący nieefektywność procesu glikolizy [42]. Najczęściej opisywano obniżenie aktywności niektórych enzymów glikolizy, np. GAPDH, obniżenie stężenia metabolitów i enzymów cyklu Krebsa, np. bursztynilo-CoA, akonitazy, KGDH, a także osłabienie aktywności łańcucha oddechowego: kompleksu I – NADH (oksydoreduktazy ubichinonu), II – SDH (dehydrogenazy bursztynianowej), III (kompleksu cytochromu bc1) i IV (oksydazy cytochromu c) [9,27,38,42,45,56,64]. Ponadto wykazano wzrost przepuszczalności błon mitochondrialnych prowadzący do wycieku cytochromu c, aktywacji kaspazy-9 i niszczenia neuronów w mechanizmie apoptozy, nekrozy lub autofagii [9,10,11,27,39,45,46]. Zaburzenia procesu fosforylacji oksydacyjnej mogą być wynikiem mutacji zarówno w genomie komórki, jak i w genomie mitochondrialnym, mogą także dotyczyć deregulacji ekspresji genów kodujących białka łańcucha oddechowego, uczestniczące w składaniu jego kompleksów. Upośledzenie funkcji mitochondriów w wyniku działania mHTT dotyczy różnych typów komórek nerwowych w wielu regionach mózgu, a zwłaszcza w prążkowie [13,20,27,42,45]. Na regulację procesów oddychania na poziomie molekularnym ma wpływ białko PGC-1 α , będące koaktywatorem receptora aktywowanego przez proliferatory peroksysomów, które jest ligandozależnym czynnikiem transkrypcyjnym, należącym do rodziny jądrowych receptorów steroidowych [17,40,56,64]. PGC-1 α bierze udział w utrzymaniu homeostazy procesów energetycznych i stymuluje biogenezę mitochondriów.

Na szczególną uwagę zasługuje sąsiedztwo na chromosomie 4 dwóch loci, *PPARGC1A* (kodującego PGC1-1 α) (4p.15) i *HTT* (4p.16), które jest przedmiotem dyskusji dotyczącej wpływu *mHTT* na procesy energetyczne przez wpływ PGC-1 α na zmianę ekspresji innych loci, np. *CREB/TAF4*, *ERRa* i *NRF-1* [39,46]. PGC-1 α inicjuje ponadto transkrypcję wielu białek przez zaangażowanie białek o aktywności acetylotransferazy histonowej (HAT), CBP, p300, SRC-1 oraz przez regulację ekspresji mitochondrialnych genów *OXPHOS* i endogennych antyoksydantów [17,46,64]. U osób z wczesną postacią HD w badaniach (*post mortem*)

komórek jądra ogoniastego wykazano 30% obniżenie stężenia mRNA genu *PPARGC1A* przy braku zmian poziomu jego ekspresji w innych obszarach prądkowia [17]. Jądro ogoniaste jest miejscem, w którym najwcześniej dochodzi do defektu energetycznego w średnich neuronach kolczystych, MSN i ich ubytku, przy niewielkich zmianach interneuronów prądkowia [46,49]. Badania z zastosowaniem mysiego modelu HD wykazały 47-krotny wzrost stężenia białka PGC1- α w interneuronach, w porównaniu do stężenia u myszy zdrowych [17]. Wykazane zróżnicowanie poziomu ekspresji PGC1- α , tj. spadek w neuronach MSN (które ulegają zniszczeniu) i wzrost w interneuronach (nNOS), które dłużej nie ulegają neurodegeneracji wskazuje na znaczenie protekcyjne optymalnego poziomu PGC1- α w neuronach.

Wydaje się, że PGC1- α może być zarówno biomarkerem wczesnych zmian zachodzących w aktywnych metabolicznie komórkach OUN i tkankach peryferyjnych, jak i celem działania nowych leków [17,40,49,64]. Obniżenie ekspresji *PPARGC1A* jest związane z zaburzeniami, zwłaszcza metabolizmu glukozy, zahamowaniem biogenezy mitochondriów, obniżeniem wydajności procesów energetycznych, wzrostem poziomu stresu oksydacyjnego i obniżeniem żywotności komórek [4,17,64]. Niski poziom PGC1- α wpływa bezpośrednio na obniżenie wydajności procesów fosforylacji oksydacyjnej i utleniania tłuszczu. Powoduje to gromadzenie się lipidów w mięśniach szkieletowych, oporność insulinową i cukrzycę typu 2. W warunkach *in vitro* wykazano, że niewielkie stężenie PGC1- α hamuje wykorzystanie glukozy w hodowli komórek mięśniowych na etapie tworzenia miotubul, a prawidłowy poziom tego czynnika wpływa korzystnie na strukturę i funkcje mięśni, poprawia angiogenezę i odzysk komórek po niedotlenieniu, działa kardioprotekcyjnie i przeciwzapalnie [4,11,64].

Obniżenie poziomu transkrypcji *PPARGC1A* przez mHTT i towarzysząca dysfunkcja mitochondriów, mają związek z obniżeniem wydajności procesów energetycznych i nasileniem się procesów neurodegeneracji. Wzrost poziomu „przełącznika” energetycznego PGC1- α może zatem zahamować niekorzystne procesy neuronów prądkowia związane z niedoborem energii i wywołać działanie neuroprotekcyjne [17,40]. We wstępnych badaniach wykazano, że najsilniejszymi induktorami PGC1- α są emetyna, kefalina i anizomycyna, które są inhibitorami syntezy białek [4], jak również leki hipoglikemizujące z grupy tiazolidinedionów, np.: rosiglitazon czy pioglitazon, wykazujące działanie neuroprotekcyjne w chorobie Parkinsona [11]. Najczęściej stosowanymi induktorami PGC1- α w badaniach *in vitro* są glikokortykoidy oraz inhibitory rozpadu mikrotubul, np.: kolchicina, takсол, nokodazol, czy podofilotoksyna, które zwiększają poziom jego ekspresji 2–5-krotnie [4].

ZABURZENIA POZIOMU AMINOKWASÓW ROZGAŁĘZIONYCH W HD

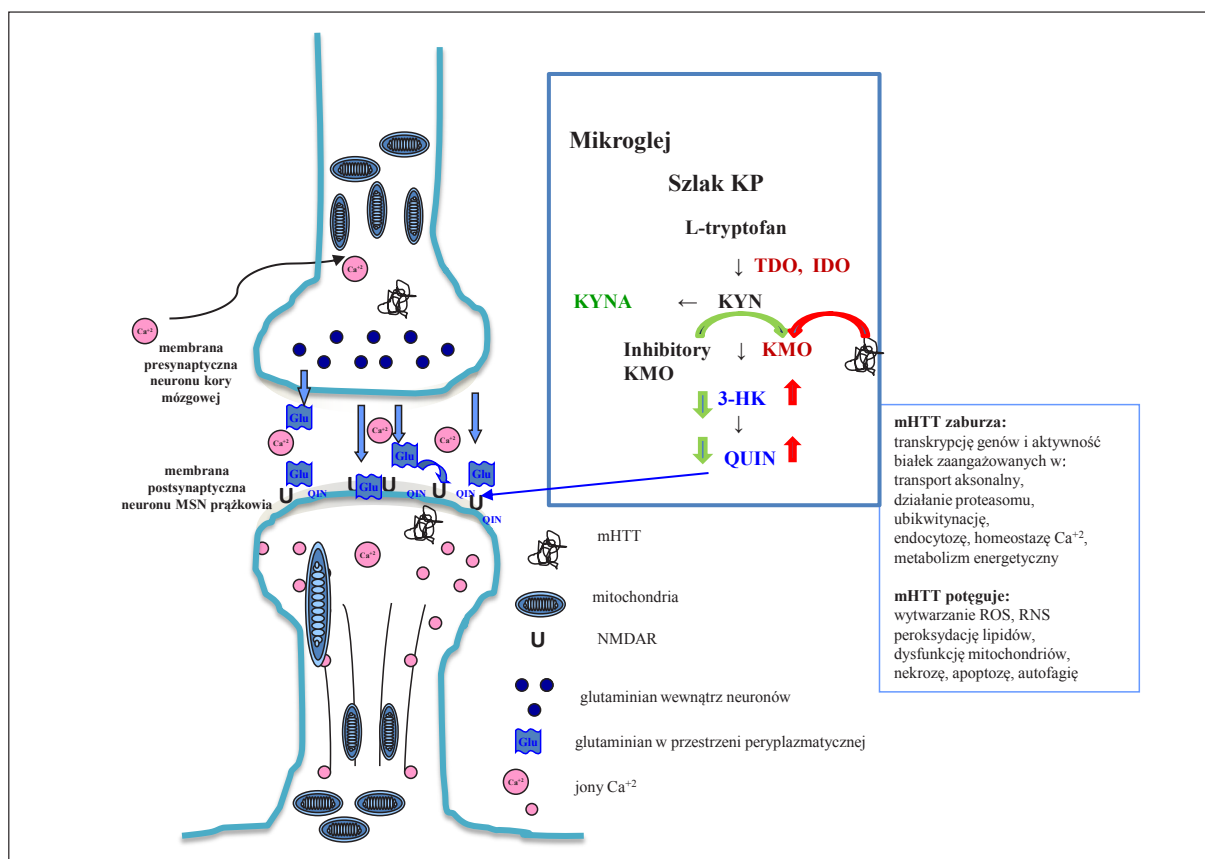
U osób z HD z objawami neurologicznymi wykazano istotne statystycznie obniżenie stężenia aminokwasów rozgałęzionych BCAA (branched-chain amino acids) w

osoczu, przy czym nieznaczny spadek pojawiał się u osób bez tych objawów, w porównaniu z grupą kontrolną. Obniżenie stężenia BCAA korelowało z objawami dystonii i/lub mimowolnymi ruchami płasawiczymi, a także ze spadkiem masy ciała, intensywniej zaznaczającym się wraz z zaawansowaniem choroby [25,43].

Aminokwasy rozgałęzione: leucyna, walina i izoleucyna, stanowią prawie 35% puli aminokwasów organizmu, z czego 14% buduje mięśnie szkieletowe [3]. Egzogenne aminokwasy są składnikiem białek strukturalnych i czynnościowych, a także biorą udział w procesach energetycznych, jako donory substratów cyklu Krebsa [3,8,30]. Po posiłku, 50% puli BCAA z pożywienia jest asymilowanych przez mięśnie szkieletowe. BCAA korzystnie wpływają na optymalizację metabolizmu białek organizmu, przez hamowanie procesów katabolicznych, zwłaszcza rozpadu białek mięśni i na stymulację anabolizmu, głównie syntezę białek w mięśniach, wątrobie i mózgu [3]. Pośrednio optymalizują stężenie glukozy w surowicy krwi, a także innych metabolitów, w tym neuroprzekazników w OUN [8,30,44]. BCAA są uważane za główny donor azotu w syntezie glutaminy i alaniny w mięśniach szkieletowych. Mechanizmy regulujące katabolizm BCAA mają korzystny wpływ na regulację genów kodujących białka zaangażowane w metabolizm kwasów tłuszczowych [8]. Udokumentowano korzystne działanie suplementacji diety w BCAA, którą stosowano w celu zahamowania proteolizy u osób z sepsą, a także w stanach wyczerpania po operacjach lub u osób z licznymi uszkodzeniami ciała [3]. Wpływ dotyczył poprawy procesów poznawczych, mowy i funkcji pisania u osób z encefalopatią i z rozległymi uszkodzeniami mózgu. W badaniach nad wpływem suplementacji BCAA u osób z uszkodzeniami mózgu wykazano znaczący wzrost ich stężenia już po 15 dniach podawania dożylnego oraz spadek stężenia tryptofanu w porównaniu do kontroli, gdzie odnotowano nieznaczny wzrost BCAA i tryptofanu [3]. Wykazano szczególny wpływ leucyny w regulacji wydzielania insuliny przez komórki (β) trzustki, nawet przy nieobecności glukozy [30]. Stabilizacja stężenia insuliny przez optymalizację procesów energetycznych może mieć znaczenie szczególnie korzystne dla komórek mózgu, zwłaszcza w chorobach neurodegeneracyjnych. W celu określenia znaczenia BCAA jako biomarkerów lub suplementów diety u osób z HD, potrzebne są dodatkowe badania.

ROLA UPOŚLEDZENIA METABOLIZMU TRYPTOFANU W PATOFIZJOLOGII HD

W procesie metabolizmu tryptofanu w szlaku kinureniny (KP) głównym enzymem jest monooksygenaza kinureniny (KMO), katalizująca hydroksylację L-kinureniny (KYN) do 3-hydroksykinureniny (3-HK) o działaniu neurotoksycznym (ryc. 2) [9,22,47]. W kolejnych etapach 3-HK ulega przekształceniu do neurotoksycznego kwasu chinolinowego (QUIN). KYN może być także modyfikowana przez aminotransferazę KYN do kwasu kinureninowego (KYNA) o działaniu neuroprotekcyjnym [22,47]. Upośle-



Ryc. 2. Uproszczony schemat wpływu uszkodzonego szlaku kinureny (KP) na zaburzenia neurotransmisji w HD; TDO (2,3-dioksygenaza tryptofanu) i IDO (2,3-dioksygenaza indolowa) przekształcają L-tryptofan do L-KYN (L-kinureny); KMO (kinurenyno-3-monooksygenaza) przekształca L-KYN do neurotoksycznych metabolitów 3-HT (3-hydroksykinureny) i QUIN (kwasu chinolinowego); mHTT podnosi aktywność KMO, wpływając na wzrost poziomu neurotoksycznych metabolitów szlaku KP, a inhibitory KMO minimalizują stres oksydacyjny przez zmniejszenie powstawania metabolitów neurotoksycznych

dzenie metabolizmu tryptofanu jest jednym z kilku ważnych mechanizmów przyczyniających się do obumierania MSN w HD. W mysim modelu HD wykazano nieprawidłowości KP, stwierdzono bowiem wzrost neurotoksycznych metabolitów 3-HK i QUIN niezależnie wzmagających ekscytotoksyczność w procesie aktywacji receptorów NMDAR. Po podaniu 3-HK i QUIN myszom bez mutacji w *Htt* (kontrola), wykazano uszkodzenie prądkowia charakterystyczne dla modelu mysiego HD [22,47]. Zablokowanie aktywności KMO, zmniejszyło powstawanie 3-HK i skutki neurotoksyczności. W badaniach funkcjonalnych genomu drożdży, *Saccharomyces cerevisiae*, znaleziono 52 geny potęgujące toksyczność tego białka w mechanizmie wzrostu poziomu stresu oksydacyjnego. Wykazano, że mHTT najsilniej wzmagą toksyczność genu *bnaf4* drożdży (odpowiednika ludzkiego genu *KMO*). Znaleziono także wiele genów kodujących białka hamujące toksyczność mHTT. Poszukiwanie skutecznych inhibitorów KMO może przyczynić się do znalezienia nowych leków o działaniu neuroprotekcijnym.

Deacetylazy histonowe, HDAC, wytwarzane przez mikroglej indukują transkrypcję genów KP i podnoszą poziom neurotoksycznego QUIN [22,41]. Odkrycie toksycznego wpływu HDAC pochodzenia mikroglejowego na wzrost

ekspresji genów szlaku KP i KMO w MSN prądkowia, zapoczątkowało poszukiwania inhibitorów HDAC do zastosowania klinicznego [16,22,41]. Acetylacja i deacetylacja histonów (białek tworzących rusztowanie dla chromatyny), to procesy związane z modelowaniem struktury chromatyny. Acetylacja sprzyja rozluźnieniu chromatyny i indukcji transkrypcji, a deacetylacja to proces odwrotny, sprzyja hamowaniu transkrypcji i zwiększeniu upakowania chromatyny. Inhibitory HDAC klasy I i II wykazują działanie neuroprotekcyjne, podnosząc stężenia białek BDNF, SP1, TAFII130, HAT, CBP, p300/CBP i hamując ekspresję genów szlaku KP [16,41].

PROCESY PATOFIZJOLOGICZNE PRZEBIEGAJĄCE W OUN

Objawom klinicznym w HD towarzyszy wiele zróżnicowanych zmian umiejscowionych w wielu strukturach mózgu, głównie w prądkowiu i w zwojach podstawy. Najbardziej zmienionymi obszarami prądkowia są: jądro ogoniaste i skorupa, a w regionie zwojów podstawy: gałka błada wewnętrzna i zewnętrzna, jądro niskowzgórzowe i istota czarna [1,33,49]. Zmiany w tych obszarach zaburzają funkcjonowanie pętli podstawno-wzgórzowo-porowych, związane zarówno z funkcjami ruchowymi jak i procesami pamięci oraz dotyczą uszkodzeń drogi

bezpośredniej i pośredniej przekazywania impulsów w OUN [13,49].

W korze mózgowej dochodzi do utraty neuronów piramidowych warstwy III, V i VI, a wraz z progresją choroby obserwuje się także zmniejszenie objętości podwzgórza, hipokampa, mózdzku oraz wzgórze i jąder migdałowych [1,33].

Wykazano, że największa liczba patologicznych procesów komórkowych dotyczy MSN, które stanowią, oprócz interneuronów, około 90% komórek prążkowania, i które w wyniku różnorodnych zmian patologicznych najwcześniej ulegają zniszczeniu [33]. W początkowym etapie choroby Huntingtona dochodzi do uszkodzenia MSN drogi pośredniej, co wiąże się z charakterystycznymi ruchami płasawiczymi [49,54]. Impulsy hamujące przestają docierać z jądra ogoniastego i skorupy do gałki bladej zewnętrznej, więcej ich dociera bezpośrednio do jądra niskowzgórzowego. Oznacza to mniejsze pobudzenie wzgórze i zarazem większą stymulację zwrotną kory mózgowej (ryc. 3). Uszkodzenie drogi bezpośredniej doprowadza do zwiększenia zahamowania impulsów w obrębie wzgórze, a następnie zmniejszenia stymulacji zwrotnej kory mózgowej i może być odpowiedzialne za spowolnienie ruchowe obserwowane w zaawansowanej chorobie Huntingtona [26,49,58].

Przyczyną zmian neuropatologicznych w HD są zaburzenia neurotransmisji, które wiążą się z rozregulowaniem współdziałania układu glutaminergicznego z receptorami NMDAR i agonistą, glutaminianem oraz GABA-ergicznego i agonistą, kwasem γ -aminomasłowym. W zmienionych obszarach wykazano wybiórczy zanik GABA-ergicznego MSN [13,15,19,49]. W wielu badaniach wykazano związek aktywności mHTT ze wzrostem aktywności NMDAR oraz z uruchomieniem kaskady kaspaz i aktywacją kalpainy. Uruchomienie tych procesów prowadzi do śmierci MSN w wyniku ekscytotoksyczności. Wśród neuronów GABA-ergicznego najbardziej wrażliwe są neurony enkefalinowe z segmentów zewnętrznych gałki bladej oraz neurony bogate w substancję P, które łączą się z obszarem substancji czarnej [1,21,26]. Neurony bogate w substancję P z obszaru gałki bladej ulegają zniszczeniu w późnych stadiach choroby. Znaczny ich ubytek stwierdzano także w prążkowie modelu mysiego, a interneurony cholinergiczne prążkowania, zawierające NADPH-diaforazy, somatostatynę i neuropeptyd były odporne na degradację [13,15,21,22,26,40]. U osób w okresie przedobjawowym, a także we wczesnych stadiach HD, obserwuje się także znaczące zmniejszenie ekspresji receptorów kannabinoidowych, dopaminowych i adenylinowych w komórkach prążkowania i gałki bladej, jeszcze przed utratą neuronów [1,59,60].

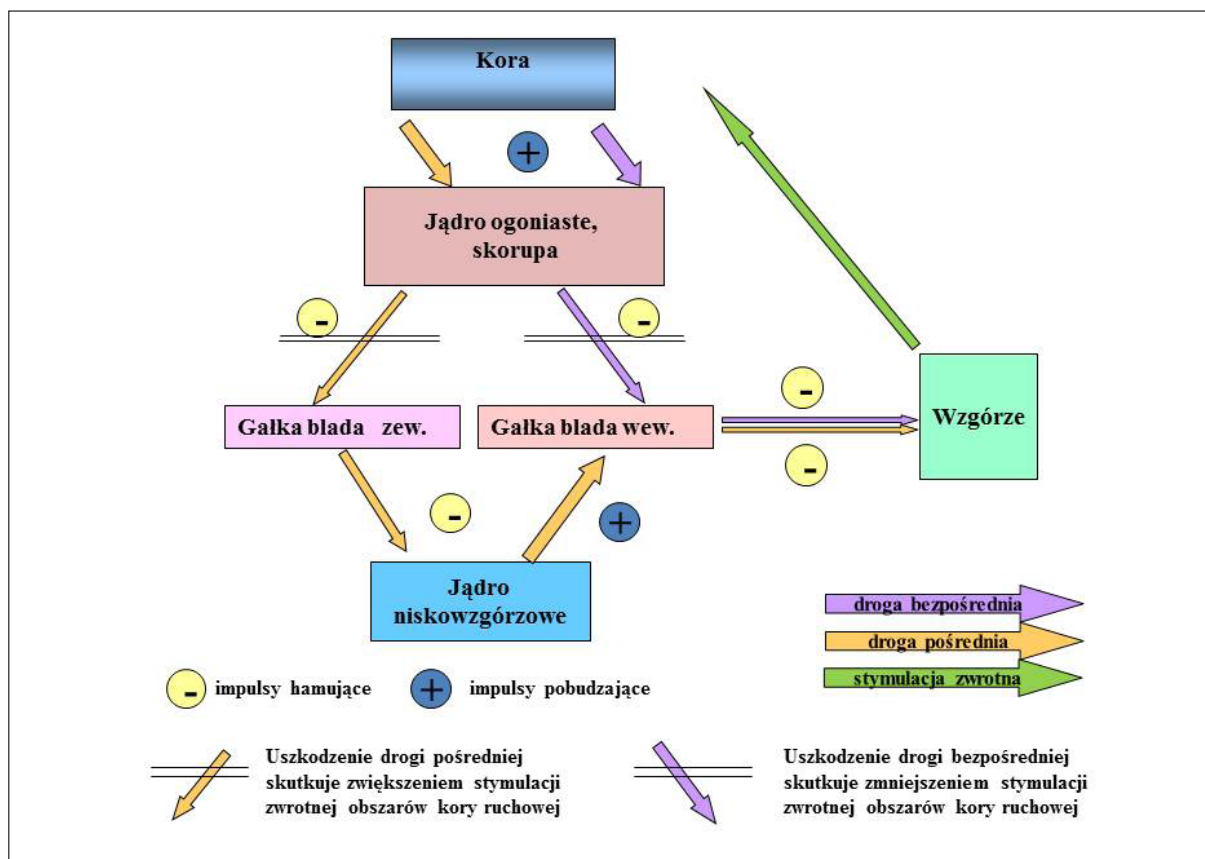
Mechanizm śmierci MSN prążkowania w procesie ekscytotoksyczności, jest związany ze wzrostem wewnątrzkomórkowego stężenia Ca^{2+} wskutek pobudzenia NMDAR przez aminokwasy ekscytotoksyczne, np. kwas glutaminowy i jego pochodne [9,14,19,20]. Zmiany

poziomu jonów wapnia w cytoplazmie, powodują przejściowe wzmocnienie wzrostu ich poziomu synaptycznego i przekazanie do jądra, a następnie na dendryty i do przestrzeni międzysynaptycznych (ryc. 2). Przy braku GABAR i neuroprzekaznika, po przyjęciu impulsu komórka nerwowa pozostaje w stanie silnego pobudzenia, bez możliwości jego wyciszenia. W wyniku zwiększenia stężenia jonów Ca^{2+} w komórce następuje aktywacja enzymów proteolitycznych, a także endonukleaz, które wzmagają wytwarzanie reaktywnych form tlenu i azotu. Następuje wówczas uruchomienie kaskady kaspaz i śmierć komórek w wyniku nekrozy, apoptozy lub autofagii [10,20,38,39]. Zaburzenia neurotransmisji z kory mózgowej do prążkowania po pobudzeniu NMDAR układu glutaminergicznego są związane z brakiem wychwyty i/lub degradacji glutaminianu oraz obniżeniem poziomu transportera glutaminianu (GLT-1). Prowadzi to do wzrostu stężenia GLT-1 w przestrzeni zewnątrzkomórkowej i wzrostu stymulacji zarówno komórek gwałkowych, jak i prążkowania [14]. Ze względu na zaburzenia homeostazy jonów wapnia w komórce, utrzymujące się wewnątrzkomórkowo wysokie stężenie wapnia, towarzyszące pobudzeniu komórek prążkowania, aktywuje także wiele czynników, np. CREB, czy kinazy zależne od wapnia. Dochodzi wówczas do aktywacji wielu procesów wewnątrzkomórkowych nasilających pobudzenie i prowadzących do śmierci komórek prążkowania w mechanizmie ekscytotoksyczności [9]. Doniesienia ostatnich lat zwracają szczególną uwagę na zaburzenia procesów energetycznych i wtórne upośledzenie metabolizmu energetycznego na poziomie komórkowym całego organizmu [4,43,45,46,57,64].

PROCESY PATOLOGICZNE PRZEBIEGAJĄCE POZA OUN

Badania obrazujące zmiany na poziomie komórkowym w całym organizmie prowadzono na myszach transgenicznych R6/1, R6/2, R6/5, ze zmutowanym genem *Htt*, o zróżnicowanej długości fragmentu polimorficznego: R6/1, (CAG)₁₁₅, R6/2, (CAG)₁₄₅ i R6/5, (CAG)₁₂₈₋₁₅₆ [53,62]. Zwierzęta te w okresie 5-10 tygodni rozwijają fenotypowo charakterystyczne dla HD zmiany neurologiczne, obejmujące ruchy mimowolne oraz spadek masy ciała. U myszy transgenicznych zlokalizowano wewnątrzjądrowe skupiska zawierające nieprawidłowe białko huntingtyny w komórkach wielu narządów, tj.: mięśni szkieletowych, serca, wątroby, trzustki, nadnerczy, nerek, ścian żołądka i dwunastnicy.

W badaniach biopsji mięśni i fibroblastów pobranych od osób w okresie przedobjawowym, wykazano zmiany biochemiczne oraz strukturalne [35,51,60,64]. W komórkach mięśni stwierdzono niedobór mitochondrialnego kompleksu IV, a w hodowli fibroblastów, wykazano upośledzenie mitochondrialnych procesów oddychania komórkowego [51,60]. W badaniach skrawków pochodzących z różnych narządów ludzkich z zastosowaniem hybrydyzacji *in situ*, wykazano niski poziom mHTT oraz obecność agregatów jądrowych tego białka w komórkach wątroby i trzustki [51]. Atrofia mięśni szkieletowych, ubytek masy ciała oraz często opisywana niedomoga mitochondrialnych procesów oddy-



Ryc. 3. Zaburzenia transmisji sygnałów pomiędzy korą a prądkowiem w chorobie Huntingtona (omówienie w tekście)

chania komórkowego, zwracają uwagę badaczy na zmiany metabolizmu energetycznego także poza układem nerwowym, które mogą się pojawić jako pierwsze symptomy choroby [25,35,36,37,43]. Zmiany wymagają jednak weryfikacji swoistości i powinny być przeprowadzone w badaniach z udziałem większej liczby osób w toku badań nad biomarkarami HD. W przebiegu HD dochodzi ponadto do dysfunkcji wielu procesów fizjologicznych, np. wchłaniania pokarmów, trawienia, wydzielania śliny, upośledzenia aktywności enzymów szlaku mocznikowego w wątrobie, zaburzenia homeostazy glukozy przy braku obniżonego stężenia insuliny. W pracach przeglądowych opisywano zróżnicowanie stężenia hormonów, np.: somatostatyny, glukagonu, testosteronu, kortyzolu w surowicy osób z HD. Na modelach zwierzęcych opisywano podobne jak u ludzi zaburzenia homeostazy glukozy, ale z obniżeniem stężenia insuliny, a także nieznaczny spadek masy narządów, tj. wątroby, serca i nerek [51,60].

Odkrycie zmian metabolizmu energetycznego na poziomie komórkowym poza układem nerwowym, stwarza szansę na znalezienie czułych biomarkerów biochemicznych i molekularnych na bardzo wczesnym etapie rozwoju choroby.

OBSZARY POSZUKIWANIA BIOMARKERÓW

Progresja choroby Huntingtona jest zazwyczaj powolna, pierwsze jej objawy kliniczne, w postaci zmian osobowo-

ści, depresji, czy zmian neurologicznych są nieswoiste. Utrudnia to rozpoznanie choroby, zwłaszcza w przypadkach pierwszego pojawienia się jej w rodzinie, a retrospektywnie umożliwia identyfikację pierwszych zmian patologicznych, znacznie wyprzedzających objawy charakterystyczne w HD.

Od kilku lat w ramach europejskiej sieci badań choroby Huntingtona, EHDN, prowadzone są wielokierunkowe badania mające na celu wyznaczenie czułych i swoistych biomarkerów pozwalających na śledzenie różnego rodzaju zmian, np. biochemicznych przez analizę stężenia enzymów, metabolitów; zmian fizjologicznych, takich jak: szybkość ruchów nastawczych gałek ocznych, tzw. sakadycznych [2], czy zmian strukturalnych, np. wielkość struktur mózgu [33], a także zmian na poziomie molekularnym, np.: ekspresji genów związanych z procesami patologicznymi [6,36,50]. Ustalenie grupy biomarkerów oraz walidacja stosowanych metod pozwoli na uzyskiwanie wiarygodnych wyników badań wielośrodkowych.

W poszukiwaniu biomarkerów, istotna jest dostępność materiału klinicznego oraz czułość, swoistość i bezpieczeństwo stosowanych metod badawczych. W badaniach biomarkerów biochemicznych i molekularnych najczęściej stosowane materiały kliniczne to krew, płyn mózgowo-rdzeniowy, mocz, rzadziej biopsjaty skóry lub

mięśni. Badania dotyczą określania poziomu mediatorów stanu zapalnego [60], BCAA [25,43], metabolitów cholesterolu [37], ekspresji tzw. markerowych genów [6,36,50], BDNF i innych metabolitów [7,22].

Zastosowanie wielu strategii badawczych w poznawaniu mechanizmów patofizjologii HD może umożliwić opracowanie nowych metod wczesnej diagnozy i nowych kierunków terapii, które mogłyby zahamować lub wyraźnie spowolnić rozwój choroby na bardzo wczesnym etapie.

PIŚMIENICTWO

[1] Allen K.L., Waldvogel H.J., Glass M., Faull R.L.: Cannabinoid (CB₁), GABA_A and GABA_B receptor subunit changes in the *globus pallidus* in Huntington's disease. *J. Chem. Neuroanat.*, 2009; 37: 266-281

[2] Antoniadis C.A., Altham P.M., Mason S.L., Barker R.A., Carpenter R.: Saccadometry: a new tool for evaluating presymptomatic Huntington patients. *Neuroreport*, 2007; 18: 1133-1136

[3] Aquilani R., Iadarola P., Contardi A., Boselli M., Verri M., Pastoris O., Boschi F., Arcidiaco P., Viglio S.: Branched-chain amino acids enhance the cognitive recovery of patients with severe traumatic brain injury. *Arch. Phys. Med. Rehabil.*, 2005; 86: 1729-1735

[4] Arany Z., Wagner B.K., Ma Y., Chinsomboon J., Laznik D., Spiegelman B.M.: Gene expression-based screening identifies microtubule inhibitors as inducers of PGC-1 α and oxidative phosphorylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 4721-4726

[5] Atwal R.S., Xia J., Pinchev D., Taylor J., Epand R.M., Truant R.: Huntingtin has a membrane association signal that can modulate huntingtin aggregation, nuclear entry and toxicity. *Hum. Mol. Genet.*, 2007; 16: 2600-2615

[6] Borovecki F., Lovrecic L., Zhou J., Jeong H., Then F., Rosas H.D., Hersch S.M., Hogarth P., Bouzou B., Jensen R.V., Krainc D.: Genome-wide expression profiling of human blood reveals biomarkers for Huntington's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 11023-11028

[7] Borrell-Pages M., Canals J.M., Cordelieres F.P., Parker J.A., Pineda J.R., Grange G., Bryson E.A., Guillemier M., Hirsch E., Hantraye P., Cheetham M.E., Néri C., Alberch J., Brouillet E., Saudou F., Humbert S.: Cystamine and cysteamine increase brain levels of BDNF in Huntington disease via HSP1b and transglutaminase. *J. Clin. Invest.*, 2006; 116: 1410-1424

[8] Brosnan J.T., Brosnan M.E.: Branched-chain amino acids: enzyme and substrate regulation. *J. Nutr.*, 2006; 136 (Suppl. 1): 2075-2115

[9] Browne S.E.: Mitochondria and Huntington's disease pathogenesis: insight from genetic and chemical models. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2008; 1147: 358-382

[10] Bubko I., Gruber B.M., Anuszevska E.L.: The role of the proteasome for therapy of incurable diseases. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 314-325

[11] Carta A.R., Pisanu A.: Modulating microglia activity with PPAR- γ agonists: a promising therapy for Parkinson's disease? *Neurotox. Res.*, 2013; 23: 112-123

[12] Caviston J.P., Holzbaur E.L.: Huntingtin as an essential integrator of intracellular vesicular trafficking. *Trends Cell Biol.*, 2009; 19: 147-155

[13] Charrin B.C., Saudou F., Humbert S.: Axonal transport failure in neurodegenerative disorders: the case of Huntington's disease. *Pathol. Biol.*, 2005; 53: 189-192

PODSUMOWANIE

Zastosowanie najnowszych technik biologii molekularnej i technik obrazowania umożliwiło identyfikację zmian procesów fizjologicznych na poziomie komórkowym w i poza OUN i uwidoczniło złożony obraz zmian w chorobie Huntingtona. Obliguje to do postrzegania tej choroby jako systemowej całego organizmu, a nie jako choroby jedynie układu nerwowego, co powinno rozszerzyć współpracę wielu specjalistów w procesie diagnostyki i leczenia zmian patologicznych u osób z HD.

[14] Chen L.L., Wu J.C., Wang L.H., Wang J., Qin Z.H., Difiglia M., Lin F.: Rapamycin prevents the mutant huntingtin-suppressed GLT-1 expression in cultured astrocytes. *Acta Pharmacol Sin.*, 2012; 33: 385-392

[15] Cho S.R., Benraiss A., Chmielnicki E., Samdani A., Economides A., Goldman S.A.: Induction of neostriatal neurogenesis slows disease progression in a transgenic murine model of Huntington disease. *J. Clin. Invest.*, 2007; 117: 2889-2902

[16] Chuang D.M., Leng Y., Marinova Z., Kim H.J., Chiu C.T.: Multiple roles of HDAC inhibition in neurodegenerative conditions. *Trends Neurosci.*, 2009; 32: 591-601

[17] Cui L., Jeong H., Borovecki F., Parkhurst C.N., Tanese N., Krainc D.: Transcriptional repression of PGC-1 α by mutant huntingtin leads to mitochondrial dysfunction and neurodegeneration. *Cell*, 2006; 127: 59-69

[18] Domercq M., Matute C.: Neuroprotection by tetracyclines. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2004; 25: 609-612

[19] Doria J.G., de Souza J.M., Andrade J.N., Rodrigues H.A., Guimaraes I.M., Carvalho T.G., Guatimosim C., Dobransky T., Ribeiro F.M.: The mGluR5 positive allosteric modulator, CDPPB, ameliorates pathology and phenotypic signs of a mouse model of Huntington's disease. *Neurobiol Dis.*, 2015; 73: 163-173

[20] Fernandes H.B., Baimbridge K.G., Church J., Hayden M.R., Raymond L.A.: Mitochondrial sensitivity and altered calcium handling underlie enhanced NMDA-induced apoptosis in YAC128 model of Huntington's disease. *J. Neurosci.*, 2007; 27: 13614-13623

[21] Ferrante R.J.: Mouse models of Huntington's disease and methodological considerations for therapeutic trials. *Biochim. Biophys. Acta*, 2009; 1792: 506-520

[22] Finkbeiner S., Cuervo A.M., Morimoto R.I., Muchowski P.J.: Disease-modifying pathways in neurodegeneration. *J. Neurosci.*, 2006; 26: 10349-10357

[23] Gao Y.G., Yan X.Z., Song A.X., Chang Y.G., Gao X.C., Jiang N., Zhang Q., Hu H.Y.: Structural insights into the specific binding of huntingtin proline-rich region with the SH3 and WW domains. *Structure*, 2006; 14: 1755-1765

[24] Group THsDCR: A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell*, 1993; 72: 971-983

[25] Gruber B., Kłaczko G., Jaworska M., Krzysztoń-Russjan J., Anuszevska E.L., Zielonka D., Klimberg A., Marcinkowski J.T.: Huntington' disease - imbalance of amino acid levels in plasma of patients and mutation carriers. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 2013; 20: 779-783

[26] Gulyás B., Sovago J., Gomez-Mancilla B., Jia Z., Szigeti C., Gulya K., Schumacher M., Maguire R.P., Gasparini F., Halldin C.: Decrease of mGluR5 receptor density goes parallel with changes in enkephalin and substance P immunoreactivity in Huntington's disease: a

preliminary investigation in the postmortem human brain. *Brain Struct. Funct.*, 2015; 220: 3043-3051

- [27] Guo X., Disatnik M.H., Monbureau M., Shamloo M., Mochly-Rosen D., Qi X.: Inhibition of mitochondrial fragmentation diminishes Huntington's disease-associated neurodegeneration. *J. Clin. Invest.*, 2013; 123: 5371-5388
- [28] Gusella J.F., Macdonald M.: Genetic criteria for Huntington's disease pathogenesis. *Brain Res. Bull.*, 2007; 72: 78-82
- [29] Gusella J.F., MacDonald M.E.: Huntington's disease: the case for genetic modifiers. *Genome Med.*, 2009; 1: 80
- [30] Harris R.A., Joshi M., Jeoung N.H., Obayashi M.: Overview of the molecular and biochemical basis of branched-chain amino acid catabolism. *J. Nutr.*, 2005; 135 (Suppl. 6): 1527S-1530S
- [31] Jiang Y.J., Che M.X., Yuan J.Q., Xie Y.Y., Yan X.Z., Hu H.Y.: Interaction with polyglutamine-expanded huntingtin alters cellular distribution and RNA processing of huntingtin yeast two-hybrid protein A (HYPA). *J. Biol. Chem.*, 2011; 286: 25236-25245
- [32] Kaltenbach L.S., Romero E., Becklin R.R., Chettier R., Bell R., Phansalkar A., Strand A., Torcassi C., Savage J., Hurlburt A., Cha G.H., Ukani L., Chepanoske C.L., Zhen Y., Sahasrabudhe S. i wsp.: Huntingtin interacting proteins are genetic modifiers of neurodegeneration. *PLoS Genet.*, 2007; 3: e82
- [33] Kassubek J., Juengling F.D., Ecker D., Landwehrmeyer G.B.: Thalamic atrophy in Huntington's disease co-varies with cognitive performance: a morphometric MRI analysis. *Cereb. Cortex*, 2005; 15: 846-853
- [34] Kim M.W., Chelliah Y., Kim S.W., Otwinowski Z., Bezprozvanny I.: Secondary structure of Huntingtin amino-terminal region. *Structure*, 2009; 17: 1205-1212
- [35] Kosinski C.M., Schlangen C., Gellerich F.N., Gizatullina Z., Deschauer M., Schiefer J., Young A.B., Landwehrmeyer G.B., Toyka K.V., Sellhaus B., Lindenberg K.S.: Myopathy as a first symptom of Huntington's disease in a Marathon runner. *Mov. Disord.*, 2007; 22: 1637-1640
- [36] Krzysztoń-Russjan J., Zielonka D., Jackiewicz J., Kuśmirek S., Bubko I., Klimberg A., Marcinkowski J.T., Anuszczyńska E.L.: A study of molecular changes relating to energy metabolism and cellular stress in people with Huntington's disease: looking for biomarkers. *J. Bioenerg. Biomembr.*, 2013; 45: 71-85
- [37] Leoni V., Mariotti C., Tabrizi S.J., Valenza M., Wild E.J., Henley S.M., Hobbs N.Z., Mandelli M.L., Grisoli M., Björkhem I., Cattaneo E., Di Donato S.: Plasma 24S-hydroxycholesterol and caudate MRI in pre-manifest and early Huntington's disease. *Brain*, 2008; 131: 2851-2859
- [38] Li S.H., Li X.J.: Huntingtin and its role in neuronal degeneration. *Neuroscientist*, 2004; 10: 467-475
- [39] Maiese K., Chong Z.Z., Shang Y.C., Wang S.: Targeting disease through novel pathways of apoptosis and autophagy. *Expert Opin. Ther. Targets*, 2012; 16: 1203-1214
- [40] McGill J.K., Beal M.F.: PGC-1 α , a new therapeutic target in Huntington's disease? *Cell*, 2006; 127: 465-468
- [41] Mielcarek M., Landles C., Weiss A., Bradaia A., Seredenina T., Inuabasi L., Osborne G.F., Wadel K., Touller C., Butler R., Robertson J., Franklin S.A., Smith D.L., Park L., Marks P.A. i wsp.: HDAC4 reduction: a novel therapeutic strategy to target cytoplasmic huntingtin and ameliorate neurodegeneration. *PLoS Biol.*, 2013; 11: e1001717
- [42] Milakovic T., Johnson G.V.: Mitochondrial respiration and ATP production are significantly impaired in striatal cells expressing mutant huntingtin. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 30773-30782
- [43] Mochel F., Charles P., Seguin F., Barritault J., Coussieu C., Perin L., Le Bouc Y., Gervais C., Carcelain G., Vassault A., Feingold J., Rabier D., Durr A.: Early energy deficit in Huntington disease: identification of a plasma biomarker traceable during disease progression. *PLoS One*, 2007; 2: e647
- [44] Mori M., Adachi Y., Mori N., Kurihara S., Kashiwaya Y., Kusumi M., Takeshima T., Nakashima K.: Double-blind crossover study of branched-chain amino acid therapy in patients with spinocerebellar degeneration. *J. Neurol. Sci.*, 2002; 195: 149-152
- [45] Naia L., Ferreira I.L., Cunha-Oliveira T., Duarte A.I., Ribeiro M., Rosenstock T.R., Laço M.N., Ribeiro M.J., Oliveira C.R., Saudou F., Humbert S., Rego A.C.: Activation of IGF-1 and insulin signaling pathways ameliorate mitochondrial function and energy metabolism in Huntington's Disease human lymphoblasts. *Mol. Neurobiol.*, 2015; 51: 331-348
- [46] Napoli E., Wong S., Hung C., Ross-Inta C., Bomdica P., Giulivi C.: Defective mitochondrial disulfide relay system, altered mitochondrial morphology and function in Huntington's disease. *Hum. Mol. Genet.*, 2013; 22: 989-1004
- [47] Perez-De La Cruz V., Santamaria A.: Integrative hypothesis for Huntington's disease: a brief review of experimental evidence. *Physiol. Res.*, 2007; 56: 513-526
- [48] Quarrell O.W., Rigby A.S., Barron L., Crow Y., Dalton A., Dennis N., Fryer A.E., Heydon F., Kinning E., Lashwood A., Losekoot M., Margerison L., McDonnell S., Morrison P.J., Norman A., Peterson M., Raymond F.L., Simpson S., Thompson E., Warner J.: Reduced penetrance alleles for Huntington's disease: a multi-centre direct observational study. *J. Med. Genet.*, 2007; 44: e68
- [49] Reinius B., Blunder M., Brett F.M., Eriksson A., Patra K., Jonsson J., Jazin E., Kullander K.: Conditional targeting of medium spiny neurons in the striatal matrix. *Front Behav Neurosci.*, 2015; 9: 71
- [50] Runne H., Kuhn A., Wild E.J., Pratyaksha W., Kristiansen M., Isaacs J.D., Régulier E., Delorenzi M., Tabrizi S.J., Luthi-Carter R.: Analysis of potential transcriptomic biomarkers for Huntington's disease in peripheral blood. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 14424-14429
- [51] Sassone J., Colciago C., Cislighi G., Silani V., Ciammola A.: Huntington's disease: the current state of research with peripheral tissues. *Exp. Neurol.*, 2009; 219: 385-397
- [52] Semaka A., Kay C., Belfroid R.D., Bijlsma E.K., Losekoot M., van Langen I.M., van Maarle M.C., Oosterloo M., Hayden M.R., van Belzen M.J.: A new mutation for Huntington disease following maternal transmission of an intermediate allele. *Eur. J. Med. Genet.*, 2015; 58: 28-30
- [53] Seong I.S., Woda J.M., Song J.J., Lloret A., Abeyrathne P.D., Woo C.J., Gregory G., Lee J.M., Wheeler V.C., Walz T., Kingston R.E., Gusella J.F., Conlon R.A., MacDonald M.E.: Huntingtin facilitates polycomb repressive complex 2. *Hum. Mol. Genet.*, 2010; 19: 573-583
- [54] Shoulson I., Young A.B.: Milestones in huntington disease. *Mov. Disord.*, 2011; 26: 1127-1133
- [55] Sipilä J.O., Hietala M., Siitonen A., Päivärinta M., Majamaa K.: Epidemiology of Huntington's disease in Finland. *Parkinsonism Relat. Disord.*, 2015; 21: 46-49
- [56] St-Pierre J., Drori S., Uldry M., Silvaggi J.M., Rhee J., Jäger S., Handschin C., Zheng K., Lin J., Yang W., Simon D.K., Bachoo R., Spiegelman B.M.: Suppression of reactive oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators. *Cell*, 2006; 127: 397-408
- [57] Strand A.D., Aragaki A.K., Shaw D., Bird T., Holton J., Turner C., Tapscott S.J., Tabrizi S.J., Schapira A.H., Kooperberg C., Olson J.M.: Gene expression in Huntington's disease skeletal muscle: a potential biomarker. *Hum. Mol. Genet.*, 2005; 14: 1863-1876
- [58] Szcudlik A., Rudzińska M., Zielonka D.: Choroba Huntingtona – obecny stan wiedzy. *Pol. Prz. Neur.*, 2008; 4 (Suppl. A): 95-97
- [59] Tebano M.T., Martire A., Chioldi V., Ferrante A., Popoli P.: Role of adenosine A_{2A} receptors in modulating synaptic functions and brain levels of BDNF: a possible key mechanism in the pathophysiology of Huntington's disease. *ScientificWorldJournal*, 2010; 10: 1768-1782

[60] van der Burg J.M., Björkqvist M., Brundin P.: Beyond the brain: widespread pathology in Huntington's disease. *Lancet Neurol.*, 2009; 8: 765-774

[61] Vassos E., Panas M., Kladi A., Vassilopoulos D.: Effect of CAG repeat length on psychiatric disorders in Huntington's disease. *J. Psychiatr. Res.*, 2008; 42: 544-549

[62] Villar-Menéndez I., Blanch M., Tyebji S., Pereira-Veiga T., Albasanz J.L., Martín M., Ferrer I., Pérez-Navarro E., Barrachina M.: Increased 5-methylcytosine and decreased 5-hydroxymethylcytosine levels are associated with reduced striatal A2AR levels in Huntington's disease. *Neuromolecular Med.*, 2013; 15: 295-309

[63] Walker F.O.: Huntington's disease. *Lancet*, 2007; 369: 218-228

[64] Weydt P., Pineda V.V., Torrence A.E., Libby R.T., Satterfield T.F., Lazarowski E.R., Gilbert M.L., Morton G.J., Bammler T.K., Strand A.D., Cui L., Beyer R.P., Easley C.N., Smith A.C., Krainc D., Luquet S., Sweet I.R., Schwartz M.W., La Spada A.R.: Thermoregulatory and metabolic defects in Huntington's disease transgenic mice implicate PGC-1 α in Huntington's disease neurodegeneration. *Cell Metab.*, 2006; 4: 349-362

[65] Zielonka D.: Objawy, patogenez a i dostępne obecnie możliwości leczenia farmakologicznego choroby Huntingtona. *Europejska Sieć Choroby Huntingtona. Neuropsychiatr. Neuropsychol.*, 2009; 4: 10-16

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.