

MYSZY ŚWIĘTEGO WITA

■ DOROTA HOFFMAN-ZACHARSKA (01-08-2000)

Czy mysz może uratować życie człowiekowi? W laboratoriach żyją już zwierzęta, które pomogą poznać ludzkie choroby genetyczne.

Ostatnio coraz więcej uwagi poświęca się schorzeniom mózgu polegającym na degeneracji komórek nerwowych. Jednym z nich jest choroba Alzheimerera, która staje się coraz powszechniejsza w starzejących się społeczeństwach krajów rozwiniętych. Jednakże chorób tego typu jest znacznie więcej, a objawy wielu z nich uwidoczniają się już w średnim wieku. Wszystkie są nieuleczalne i prowadzą do nieodwracalnych uszkodzeń układu nerwowego. Stanowią tragedię nie tylko osób nimi dotkniętych, lecz całych rodzin, gdyż w ciągu kilku-kilkunastu lat prowadzą do utraty samodzielności przez chorych i w pełni uzależniają ich od opieki otoczenia.

Przyczyny większości chorób neurodegeneracyjnych nie są dotąd znane, istnieje jednak grupa takich schorzeń o charakterze dziedzicznym, wywoływanych mutacjami w pojedynczych genach. Do chwili obecnej u ssaków zidentyfikowano już ponad dwadzieścia takich genów oraz kodowane przez nie białka. Nie oznacza to jednak, że poznano mechanizmy poszczególnych schorzeń.

Znaczącą grupę wśród dziedzicznych chorób neurodegeneracyjnych stanowią choroby, których przyczyną na poziomie genów są tzw. mutacje dynamiczne. Prowadzą one do zwielokrotnienia pewnego fragmentu genu (ramka na następnej stronie). Dotąd zidentyfikowano dziesięć genów, w których mutacje tego typu są przyczyną choroby. Najczęściej z nich występującą i najlepiej poznaną jest choroba Huntingtona, zwana też chorobą św. Wita lub płasawicą Huntingtona (ramka na stronie obok).

Podłoże molekularne choroby Huntingtona poznano stosunkowo niedawno, kiedy udało się zidentyfikować i wyizolować odpowiedzialny za nią gen nazwany IT15 (ryc. 1). Pierwotną przyczyną choroby jest właśnie mutacja dynamiczna tego genu. Wykazano, że u ludzi liczba powtórzeń trójki nukleotydów CAG jest w tym genie zmienna. U osób zdrowych waha się od 6 do 35 (zazwyczaj nie przekracza 30), u chorych zaś wynosi od 39 do 180. Zwielokrotnienie sekwencji CAG stwierdzono u niemal wszystkich pacjentów z chorobą Huntingtona rozpoznaną na podstawie objawów klinicznych. Uznano więc, że jest to specyficzny czynnik pozwalający na potwierdzenie diagnozy tej dolegliwości u osób chorych oraz na jej wykrywanie u osób pochodzących z rodzin obciążonych tym defektem genetycznym, a nie mających jeszcze objawów.

Im więcej, tym gorzej

Wykazano, że istnieje zależność między wiekiem wystąpienia objawów a liczbą powtórzeń CAG, tzn. im większa liczba powtórzeń, tym wcześniej rozwija się choroba (ryc. 2). Jednak znajomość tej liczby nie pozwala w konkretnym przypadku dokładnie przewidzieć ani wieku zachorowania, ani przebiegu choroby.

Białko kodowane przez gen IT15 nazwano huntingtiną. Okazało się, że jest ono obecne nie tylko w komórkach układu nerwowego. Nie przypomina żadnego z dotąd poznanych białek, nie ma więc podstaw do snucia hipotez na temat roli, jaką odgrywa w komórce.

Zwielokrotnienie sekwencji CAG w genie osób chorych nie wpływa na ilość produkowanej huntingtyny, lecz powoduje, że w komórkach wytwarzane jest zarówno prawidłowe, jak i wadliwe białko. Nadal nie wiemy, dlaczego jego zmieniona forma ma efekt toksyczny kumulujący się przez lata i prowadzący do obumierania tylko określonych grup neuronów. W tej chwili jedno jest jednak pewne: gen kodujący to białko jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Dowodzą tego badania genetyczne myszy, którym usunięto odpowiednik ludzkiego genu IT15. Ginęły one we wczesnych etapach rozwoju zarodkowego.

Wielu badaczy coraz częściej sugeruje, że przyczyną obumierania neuronów w chorobach Alzheimera i Parkinsona jest apoptoza, czyli proces tzw. zaprogramowanej śmierci komórki. W odróżnieniu od obumierania komórek na skutek działania szkodliwych czynników zewnętrznych, apoptoza jest procesem autodestrukcji, inicjowanym wewnątrz samej komórki. Wspomniane wcześniej myszy pozbawione genu IT15 umierały w stadium zarodkowym właśnie w wyniku nadmiernej apoptozy własnych komórek. Przypuszcza się więc, że z podobną sytuacją możemy mieć do czynienia w przypadku choroby Huntingtona, gdyż huntingtina oddziałuje z białkami biorącymi udział w tym procesie.

Cała nadzieja w myszach

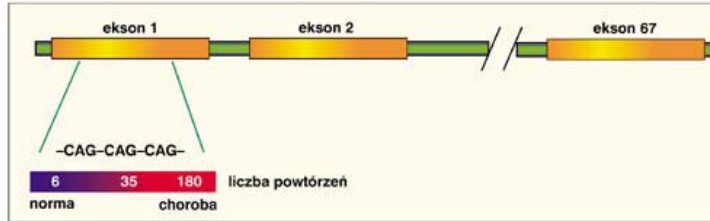
W chwili obecnej opracowanie spójnej hipotezy tłumaczącej przyczynę tej choroby nie jest jeszcze możliwe. Ostatnio dokonano jednak w tej dziedzinie znaczącego przełomu. Uzyskano bowiem transgeniczne myszy, które wykazują objawy przypominające chorobę Huntingtona. Udało się więc skonstruować zwierzęcy model tej dolegliwości.

Do mysiego materiału genetycznego wprowadzono początkowy fragment ludzkiego genu IT15, a w nim 100 powtórzeń trójki CAG. Zmodyfikowane genetycznie myszy charakteryzowały się postępującymi zmianami neurologicznymi, przypominającymi formę młodzieńczą choroby Huntingtona (ryc. 3). Analiza miejsca występowania zmienionego białka w komórkach mysich doprowadziła do bardzo istotnego odkrycia. Podczas gdy huntingtina zarówno u myszy, jak i u ludzi odnajdywane są u zdrowych osobników w cytoplazmie komórek nerwowych, zmutowane fragmenty białka zlokalizowano w jądrach tych komórek. Tworzyły tam nierozpuszczalne struktury białkowe przypominające złogi tzw. β -amyloidu, charakterystyczne dla choroby Alzheimera.

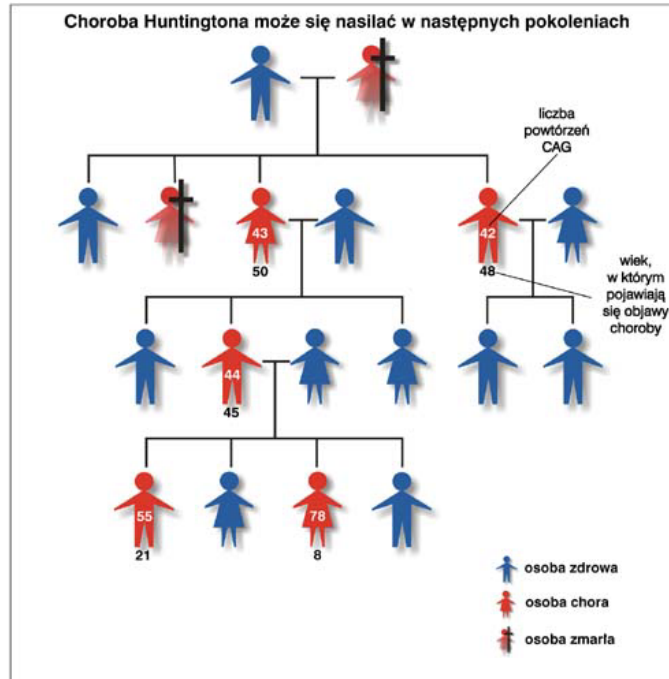
Przemieszczenie huntingtyny do jądra i tworzenie agregatów poprzedzają wystąpienie objawów płasawicy i charakterystycznych zmian w neuronach osób chorych. Ostatnie badania wykazują, że nie jest to jednak bezpośrednia przyczyna obumierania komórek nerwowych. Wydaje się natomiast, że obecność złogów białka zakłóca prawidłowe działanie enzymów jądrowych, co prowadzi do zaburzenia funkcjonowania neuronów i ich śmierci.

Jeżeli obumieranie komórek nerwowych związane jest rzeczywiście z obecnością agregatów białkowych, to uniemożliwienie ich tworzenia może dawać szansę na leczenie przyczyn płasawicy Huntingtona. Obecnie możemy jedynie łagodzić objawy tej choroby.

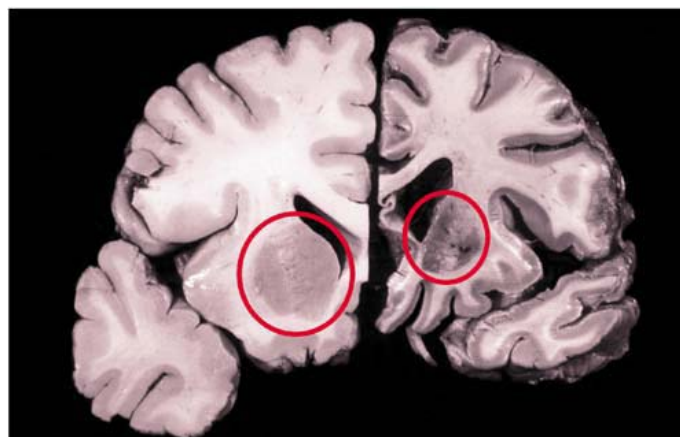
Istniejące już układy eksperymentalne pozwalają na przebadanie potencjalnych leków hamujących transport zmutowanej huntingtyny do jądra komórki lub blokujących proces powstawania agregatów tego białka. Następnym etapem prac to testowanie skuteczności nowych środków. I tu znów do pokonania nieuleczalnej dotąd choroby Huntingtona niezbędne będą zwierzęce modele tej dolegliwości.



Ryc. 1. Gen IT15 – „sprawca” płasawicy Huntingtona. Ryzyko zachorowania jest wprost proporcjonalne do liczby powtórzeń trójki nukleotydów CAG



Ryc. 2. Mutacje dynamiczne (patrz: ramka) prowadzą do zwiększania liczby powtórzeń trójki nukleotydów CAG. Powoduje to u następnych pokoleń coraz ostrzejszy przebieg choroby rozpoczynający się często we wcześniejszym wieku. Gdy liczba powtórzeń przekroczy 50, objawy mogą wystąpić nawet przed dwudziestym rokiem życia



Ryc. 3. Półkule mózgowe człowieka zdrowego (z lewej) i z zaawansowaną formą choroby Huntingtona (z prawej). Na zdjęciu zaznaczono ośrodki kontrolujące ruchy i napięcie mięśni

Pląsawica Huntingtona

Choroba dziedziczna przekazywana jako cecha nie związana z płcią, dominująca (wystarczy otrzymać zmutowany gen tylko od jednego z rodziców, aby rozwinęła się pełna postać choroby). U ludzi rasy białej zdarza się z częstością 1:10 000 osób, w Stanach Zjednoczonych jest nią dotkniętych od 25 do 30 tys. ludzi. Biorąc pod uwagę późny wiek wystąpienia jej objawów, oszacowano, że osób z ryzykiem zachorowania jest pięciokrotnie więcej. Po raz pierwszy opisał ją w 1872 roku amerykański lekarz George Huntington jako dziedziczną chorobę charakteryzującą się zaburzeniami ruchowymi, którym towarzyszą zmiany psychiczne prowadzące do otępienia. Typowym objawem choroby jest występowanie mimowolnych ruchów pląsawicznych, które początkowo obejmują tylko ograniczone grupy mięśni, a później prowadzą do stałego niepokoju ruchowego chorego. Jest to wynik uszkodzenia komórek nerwowych w ośrodkach mózgu odgrywających ważną rolę w kontrolowaniu ruchów i napięcia mięśni (ryc. 3). W 90% przypadków choroba rozpoczyna się pomiędzy trzydziestym piątym i czterdziestym rokiem życia, pozostałe 10% przypadków to tzw. forma młodzieńcza, w której objawy są ostrzejsze i pojawiają się przed dwudziestym rokiem życia. Na ogół chorzy umierają po 15-20 latach.

Mutacje dynamiczne

Pojęcie to wprowadzono do słownika genetycznego dopiero na początku lat dziewięćdziesiątych. Charakteryzuje zmiany zachodzące w obrębie fragmentów DNA często mutujących i nazwanych dlatego sekwencjami niestabilnymi. Sekwencje te to typowy przykład samolubnego DNA - powtarzają się i są rozproszone w wielu miejscach w genomie, a ich funkcja pozostaje nieznana. Mutacje dynamiczne dotyczą głównie zwiększenia liczby następujących po sobie powtórzeń kilku nukleotydów, które występują zarówno w obrębie genów, jak i w rejonach niekodujących. Liczba tych powtórzeń jest w ogólnej populacji bardzo zmienna. Prawdopodobieństwo zajścia tych mutacji jest zależne od długości już istniejącej sekwencji - jedna mutacja prowadząca do zwiększenia liczby powtórzeń zwiększa szansę na zajście kolejnej. Przyczyną choroby Huntingtona jest zwielokrotnienie w genie IT15 liczby następujących po sobie trójek nukleotydów CAG (ryc. 1). W genie pojawia się zatem ciąg sekwencji, które powodują, że w strukturze białka znajdzie się zwielokrotniony aminokwas - glutamina. Szereg glutamin w łańcuchu białkowym może utworzyć nową strukturę, której pojawienie się zmienia właściwości białka.