

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie



Dominika Vachútová

Patogenéza Huntingtonovej choroby v periférnych tkanivách
Pathogenesis of Huntington's disease in peripheral tissues

Bakalářská práce

Školitel: prof. MVDr. Jan Motlík, DrSc.

Praha, 2014

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 21.08.2014

Dominika Vachútová

Pod'akovanie:

V prvom rade by som sa chcela poďakovať svojmu školiteľovi, prof. MVDr. Janovi Motlíkovi, DrSc. za ochotu a možnosť písať prácu pod jeho dohľadom. Zároveň veľká vďaka patrí Ing. Zdenke Ellederovej, PhD. za pomoc, motiváciu a cenné rady pri vypracovávaní tejto práce.

Abstrakt

Huntingtonova choroba (HD) je neurodegeneratívne autozomálne dominantné dedičné ochorenie s nástupom prejavov až v dospelosti. Ochorenie je spôsobené expanziou CAG repetícií v géne pre proteín huntingtin, ktorý je exprimovaný vo väčšine tkanív. HD je charakteristická predovšetkým odumieraním buniek bazálnych ganglií a mozgovej kôry, ale poškodenie huntingtinu má závažný dopad aj na periférne tkanivá. Boli zistené závažné srdечné dysfunkcie, strata váhy, narušenie energetického metabolizmu, pozmenená glukózová homeostáza, atrofia svalstva a veľa ďalších. Mechanizmy týchto zmien nie sú stále dostatočne popísané a ani neexistuje adekvátne liečba.

Kľúčové slová:

Huntingtonova choroba, mutovaný huntingtin, CAG opakovanie, periférne tkanivo

Abstract

Huntington's disease (HD) is an autosomal dominant inherited disorder with manifest of symptoms around the age of 40. This disorder is caused by an expansion of CAG repeats in huntingtin gene, Huntingtin (Htt) is a protein expressed in almost all tissues. HD is mainly characterized by neurodegeneration in the basal ganglia and cerebral cortex, but mutation in huntingtin have also serious influence on peripheral tissues. Many studies show serious heart dysfunction, weight loss, altered glucose homeostasis, impairment of energetic metabolism and muscular atrophy in HD patients and animal models. Till now, mechanism of these changes has not been sufficiently described and there is nor an adequate treatment yet.

Key words:

Huntington's disease, mutated huntingtin, CAG repeat, peripheral tissue

Zoznam použitých skratiek

Akt	proteín kináza B
AMPK	AMP-aktivovaná proteínová kináza (z angl. AMP-activated protein kinase)
ANS	autonómny nervový systém
ATP	adenozíntrifosfát (z angl. adenosine triphosphate)
BDNF	mozgový neurotrofný faktor (z angl. brain-derived neurotropic factor)
BMI	index telesnej hmotnosti (z angl. body mass index)
CAG	cytosin-adenin-guanin
cAMP	cyklický adenosínmonofosfát (z angl. cyclic adenosine monophosphate)
CNS	centrálny nervový systém
COX	cytochrom oxidáza (z angl. cytochrome oxidase)
CSF	mozgovomiechový mok (z angl. cerebrospinal fluid)
ES	endokrinný systém
FADD	z angl. Fas-associated death domain
FasL	Fas ligand
HD	Huntingtonova choroba (z angl. Huntington's disease)
HEAT	z angl. huntingtin, elongation factor 3 (EF3), protein phosphatase 2A (PP2A), and the yeast kinase TOR1
HR	srdcový rytmus (z angl. heart rate)
Htt	huntingtin
mRNA	informačná RNA (z angl. messenger RNA)
mTOR	z angl. mammalian target of rapamycin
NAD/NADH	nikotinamidadeninukleotid – oxidovaná / redukovaná forma
PCr	fosfokreatín

PGC-1	z angl. peroxisome-proliferator activated receptor γ co-activator 1
Pi	pyrofosfát
Poly(Q)	polyglutamínový reťazec
PPAR	z angl. peroxisome proliferator-activated receptor
RXR	z angl. retinoid X receptor
SDH	sukcinát dehydrogenáza
WT	z angl. wild-type

Obsah

Úvod	9
1. Úvod do problematiky HD	10
1.1. História	10
1.2. Charakteristika Huntingronvej choroby	10
1.2.1. Štrukúra a funkcia huntingtinu	11
1.2.2. Prejav HD	12
1.3. Zvieracie HD modely	14
1.3.1 R/62 myši	14
13.2. R6/1 myši	14
1.3.3 N17-82Q myši	14
1.3.4. Línie Knock-in myši	15
2. Kardiovaskulárny systém	16
3. Kostrový sval	21
4. Endokrinný systém	26
4.1. Nadobličky	26
4.2. Pankreas	26
4.3. Tukové tkanivo	27
Záver	31
Referencie	32

Úvod

Huntingtonova choroba (HD) je závažné neurodegeneratívne autozomálne dominantné dedičné ochorenie, spôsobené expanziou CAG repetícií v géne pre huntingtin (Htt) na 4. chromozóme (Gusella et al. 1993).

Choroba sa začína prejavovať až v dospelom štádiu okolo 40. roku života. HD je charakteristická rozsiahlou degeneráciou buniek centrálnej nervovej sústavy (CNS), predovšetkým časti nazývanej striatum (Zuccato, Valenza, and Cattaneo 2010).

Mutovaný huntingtin má veľký dopad aj na orgány periférneho systému. Známe sú vážne poškodenia kardiovaskulárneho systému, ktoré sa uvádzajú ako jedny z najčastejších príčin úmrtia HD pacientov (Srensen and Fenger 1992). Ďalej sú pozorované vážne dysfunkcie kostrového svalu, ako napríklad svalová atrofia (Ribchester et al. 2004), či poškodenia energetického metabolizmu (Turner, Cooper, and Schapira 2007). Dochádza k výraznému úbytku na váhe (Hamilton et al. 2004), k zmenám glukózovej homeostázy, zmenenému vylučovaniu hormónov tukového tkaniva (Wang et al. 2014), poškodeniam semenníkov (Raamsdonk et al. 2007) a rôznym dysfunkciám krviniek (Sassone et al. 2009).

Táto práca je literárna rešerše doposiaľ získaných poznatkov o vplyve mutovaného Htt na periférne tkanivá u pacientov trpiacich HD aj u experimentálnych modeloch. Predovšetkým sa zameriavam na poškodenia kardiovaskulárneho systému, kostrového svalu a endokrinného systému.

1. Úvod do problematiky Huntingtonovej choroby

1.1 História

Prvé záznamy o chorobe sú z roku 1374, kedy bola známa ako „tanečná mánia“. Mimovoľné pohyby, ktoré chorobu sprevádzajú, neskôr pomenoval Paracelzus pod termínom chorea. Prvý presný popis HD bol daný až v roku 1872 doktorom Georgom Huntingtonom v spise „On chorea“ (Zuccato, Valenza, and Cattaneo 2010).

Najväčšiu štúdiu rodín trpiacich HD vytvoril v 20. rokoch 19. storočia Charles B. Davenport, čím podal presvedčivé dôkazy o autozomálne dominantnom spôsobe prenosu tejto choroby. V 50. rokoch 20. storočia bola doktorom A. Negrettom diagnostikovaná HD u početnej skupiny ľudí žijúcich pri jazere Maracaibo vo Venezuele. O dvadsať rokov neskôr, vďaka tejto komunite, objavila N. Wexierova gén, zodpovedný za HD (Zuccato, Valenza, and Cattaneo 2010).

1.2 Charakteristika Huntingtonovej choroby

Huntingtonová choroba je neliečiteľné, neurodegeneratívne ochorenie, spôsobené mutáciou v géne pre huntingtin. Prevalencia tohto ochorenia je 4-10 prípadov na 100 000 ľudí v populácii západoeurópskeho pôvodu (Zuccato, Valenza, and Cattaneo 2010).

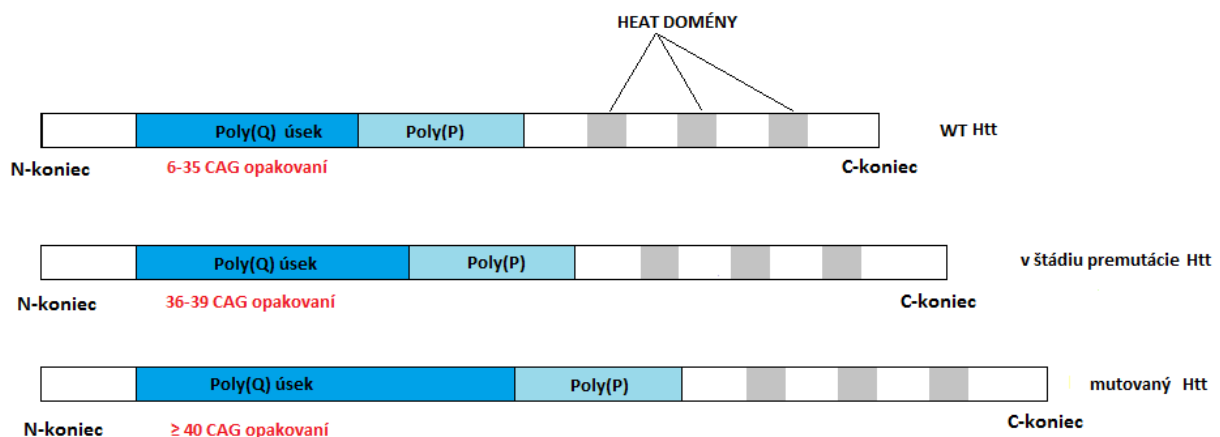
K mutácii dochádza zmnôžením úseku troch po sebe idúcich nukleotidov cytozínu, adenozínu a guanínu (CAG). Tento trinukleotid je kodón pre aminokyselinu glutamín (Q) (Gusella et al. 1993). U zdravých jedincov nachádzame 6-35 opakovaní tripletu CAG. U jedincov s počtom opakovaní 36-39 sa síce ochorenie nemusí prejaviť počas celého života, ale postihnutú alelu môžu preniesť na potomka. Pokiaľ je repetícií viac ako 40, choroba sa prejaví naplno (Rubinsztein et al. 1996). Medzi dĺžkou poly(Q) reťazca a nástupom choroby bola zistená korelácia – čím je dlhší polyglutamínový reťazec, tým skôr dochádza k nástupu prvých príznakov (Zuccato, Valenza, and Cattaneo 2010). Preto rozlišujeme niekoľko foriem HD. Najčastejšia je forma klasická, kedy sa prvé príznaky dostavia v rozmedzí 35-50 rokov. Veľmi vzácne sa vyskytuje forma juvenilná, u ktorej sa prvé príznaky prejavajú približne vo veku 20 rokov. U formy s neskorším začiatkom dochádza k nástupu príznakov okolo 60. roku života (Roos 2010).

Ako bolo spomenuté vyššie, HD patrí medzi dedičné ochorenia, a teda mutovaná alela býva najčastejšie zdedená po rodičoch, avšak zriedkavo môže vzniknúť de novo. K vzniku mutácie de novo dochádza takmer vždy u mužov, a to z dôvodu, že je väčšie riziko expanzie CAG tripletu počas spermatogenézy ako počas oogenézy (Pearson 2003).

1.2.1 Štruktúra a funkcie huntingtinu

Huntingtin (Htt) je proteín približnej molekulovej hmotnosti 348 kDa, s dĺžkou asi 3 144 aminokyselín, ktorá závisí na počte CAG opakovaní. Je kódovaný génom IT15, ktorý sa nachádza na krátkom ramienku 4. chromozómu v oblasti 16.3 (Gusella et al. 1993).

Čo sa týka štruktúry, Htt obsahuje niekoľko oblastí (obr.1) (Cattaneo, Zuccato, and Tartari 2005). Prvých 17 aminokyselín v N-terminálnej časti interaguje s proteínmi jadrového póru (Cornett et al. 2005). Potom nasleduje poly(Q) trakt s variabilnou dĺžkou, čo je úsek interagujúci s množstvom proteínov. Preto v prípade, že dochádza k jeho prílišnému predlžovaniu, čo sa deje u HD pacientov, nastáva zmena konformácie Htt a tým pádom môže dôjsť k narušeniu interakcie Htt s inými proteínmi. Ďalšou oblasťou je polyprolinový úsek, ktorý je zodpovedný za rozpustnosť Htt. Súčasťou Htt sú aj tzv. HEAT domény, ktoré majú pomocnú funkciu pri proteínových interakciách. Ďalej tu môžeme nájsť niekoľko miest, ktoré sú štepené proteázami (Cattaneo, Zuccato, and Tartari 2005).



Obr.1 Zjednodušené schematické znázornenie proteínu Htt s rôznou dĺžkou Poly(Q) oblasti

Proteín huntigtin sa zapája do mnoho dejov, no jeho presná funkcia nie je zatiaľ úplne známa. Je zrejmé, že má kľúčovú úlohu v embryonálnom vývoji, čo bolo potvrdené na myších modeloch, ktorým bol kompletne inaktivovaný Htt, preto umierali ešte pred štádiom gastrulácie (Duyao et al. 1995). Zaujímavé je, že mutovaný Htt je postačujúci k vývoju embrya, čo vypovedá o tom, že fyziologická funkcia Htt počas vývoja nie je ovplyvňovaná poly(Q) oblasťou (Cattaneo, Zuccato, and Tartari 2005).

Okrem vývoja má Htt aj množstvo ďalších dôležitých funkcií, ako napríklad kontrolu expresie niektorých génov - jeden z najdôležitejších je gén pre mozgový neurotrofný faktor (BDNF) (Cattaneo et al. 2001) ktorý sa účastní vezikulárneho transportu (Landles and Bates 2004). Významnú úlohu má aj tým, že pôsobí anti-apopticky, a to tak, že bráni aktivite kaspáz (Rigamonti et al. 2000).

1.2.2 Prejav HD

Medzi prvé prejavy patria nešpecifické psychiatrické a kognitívne zmeny. Dochádza k depresiám, často sa prejavuje agresia a je pozorovaný úbytok na váhe. V skorých štádiách HD sa objavuje hypersexualita, naopak v neskoršom štádiu prevažuje hyposexualita. Postupne dochádza k zhoršovaniu pamäti a môže sa rozvíjať demencia.

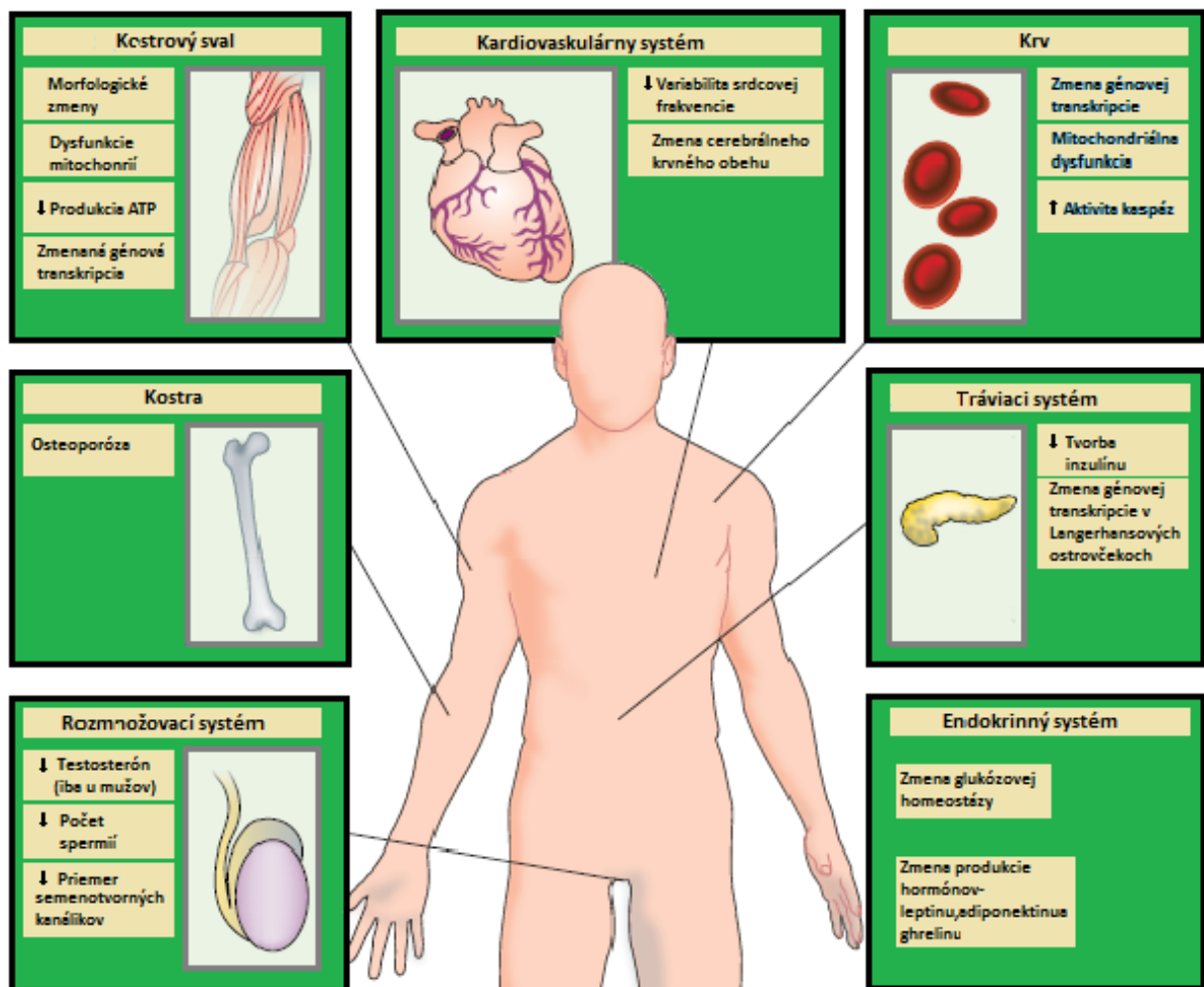
V neskoršom štádiu sa objavuje chorea s charakteristickými mimovoľnými pohybmi. Dochádza k motorickým dysfunkciám, postupne prichádza k strate schopnosti voľných pohybov a nastávajú problémy s prehĺtaním.

V konečnom štádiu je pacient pre svoju neschopnosť pohybu závislý od starostlivosti druhých a po uplynutí 17-20 rokov od prvých príznakov nastáva smrť (Roos 2010).

Typickým prejavom HD je rozsiahla neurodegenerácia mozgu, a to predovšetkým v bazálnych gangliách, v oblasti nazývanej striatum (Kumar, Kalonia, and Kumar 2010). Okrem toho, k degenerácii dochádza v menšej miere aj v iných oblastiach mozgu, ako napríklad v oblasti substantia nigra, cerebellum, thalamus (Vonsattel et al. 1985), či hypotalamus (Politis et al. 2008).

Hoci Huntingtonovou chorobou je najmarkantnejšie postihnutý CNS, mutovaný Htt má veľký dopad aj na periférne tkanivá. U pacientov trpiacich HD sa objavujú vážne srdčné poruchy, ktoré patria medzi najčastejšie príčiny úmrtia (Srensen and Fenger 1992b). Pozorované sú aj rozsiahle poškodenia vo svaloch, ako napríklad svalová atrofia (She et al.

2011) a mitochondriálne dysfunkcie (Saft et al. 2005). Zaznamenané sú zmeny v endokrinnom systéme, hlavne v hormónoch vylučovaných tukovým tkanivom (Fain et al. 2001; Phan et al. 2009). Výrazná degenerácia je pozorovaná aj v semenníkoch, kde sa výrazne znižuje počet zárodočných buniek a Sertiliho buniek. U HD subjektov tiež dochádza k výraznému zmenšeniu priemeru steny semenných kanálikov, čím je negatívne ovplyvnená spermiogenéza (Raamsdonk et al. 2007). Mutovaný Htt vyvoláva abnormality aj v rôznych druhoch krviniek, a to hlavne lymfocytov, monocytov, makrofágov a krvných doštičiek (Sassone et al. 2009). Dokonca u niektorých pacientov bola pozorovaná osteoporóza, ktorej vážnosť korelovala s počtom CAG opakovaní (Burg, Björkqvist, and Brundin 2009). Schematický súhrn poškodení periférneho tkaniva u HD je vidieť na obr. 2. Podrobnejšiemu popisu poškodenia kardiovaskulárneho systému, kostrového svalstva a endokrinného systému sa venujem v nasledujúcich kapitolách.



Obr.2 Schematické zhrnutie poškodení periférneho systému u HD subjektov (upravené podľa Burg et al., 2009).

1.3 Zvieracie HD modely

Zvieracie modely sú nevyhnutnou súčasťou výskumu HD na to, aby sme porozumeli mechanizmom, akými Huntingtonová choroba pôsobí, mohli podrobne študovať priebeh choroby a testovať jednotlivé terapeutické prístupy. Preto si v tejto kapitole uvedieme niekoľko zvieracích modelov, ktoré boli využité k štúdiu pôsobenia HD v periférnom tkanive.

1.3.1 R6/2 myši

Najpoužívanejším a najviac prebádaným modelom je línia transgénnych myši R6/2, ktorá nesie 144 tripletov. Vznikla tak, že do myšieho genómu sa vniesol 1,9 kb veľký fragment, ktorý sa skladal z exónu 1 a promótoru ľudského Htt génu (Mangiarini et al. 1996). U týchto myši nastupujú symptómy vo veku v priemere 9-11 týždňov, hoci v niektorých prípadoch bolo prepuknutie symptómov pozorované aj v 4. týždni. K smrti dochádza priemerne v 10.-13. týždni (Ramaswamy, McBride, and Kordower 2007). Rovnako ako HD pacienti, tak aj R6/2 myši vykazujú progresívny motorický a neurologický fenotyp. Boli u nich pozorované progresívne úbytky hmotnosti, choreické pohyby a mimovoľné pohyby. Dochádza k progresívnemu odumieraniu buniek striata, k strate koordinácie a taktiež sa objavujú problémy s pamäťou. Vzhľadom k veľkosti repetitívneho úseku je u tejto línie charakteristický rýchly nástup choroby, pripomínajúci skôr juvenilnú formu (Mangiarini et al. 1996).

1.3.2 R6/1 myši

Metóda prípravy R6/1 myši prebiehala rovnako ako u vyššie zmienených myši. Ale na rozdiel od R6/2 línie, tento kmeň obsahuje menší počet CAG repetícií, konkrétne 116 opakovaní. Z tohto dôvodu majú oproti R6/2 myšiam neskorší nástup choroby. Príznaky majú síce rovnaké ako R6/2 myši, ale začínajú sa prejavovať až okolo 4. mesiaca (Mangiarini et al. 1996).

1.3.3 N171-82Q myši

Ide o kmeň transgénnych myši exprimujúci prvých 171 aminokyselín (z N-konca ľudského huntingtinu) pod kontrolou myšieho promótoru. Tento vnesený fragment obsahuje 82 CAG repetícií, preto, hoci majú obdobné príznaky ako R6 línie, k prejavu príznakov dochádza podstatne neskoršie (Schilling et al. 1999).

13.4 Línie knock-in myši

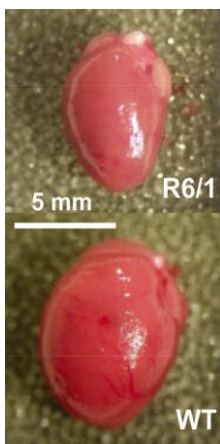
Hdh^{CAG(150)} je lúnia s počtom 150 CAG opakovaní vytvorená Detloffom a spolupracovníkmi inzeriou CAG repeticie do myšieho génu pre huntingtin, ktorá patrí medzi najľubnejšie knock-in myši. Myši vykazujú neskorší nástup behaviorálnych a neuroanatomických zmien.

CAG140 je kmeň myši vytvorený obdobne skupinou Scotta Zeitlina, ktorý obsahuje 140 CAG opakovaní (Ramaswamy, Mcbride, and Kordower 2007).

2. Kardiovaskulárny systém

Zlyhanie srdca patrí medzi časté príčiny úmrtia u pacientov, postihnutých Huntingtonovou chorobou (HD). V niekoľkých štúdiách je dokonca uvedená ako druhá najčastejšia príčina smrti. Uvádza sa, že na zlyhanie srdca zomrelo 30% HD pacientov, pričom v bežnej populácii to bolo menej než 2% (Mihm et al. 2007). Aj z tohto dôvodu sa v poslednej dobe začalo viacero výskumných skupín zaoberať vo väčšej miere zmenami kardiovaskulárneho systému u zvieracích modelov a HD pacientov.

Z morfológického hľadiska dochádza k významnej strate váhy srdcovej masy. Ako u R6/1 (Kiriazis et al. 2012), tak u R6/2 (Mihm et al. 2008) myši je táto redukcia závislá na veku (Obr.3). Ďalej dochádza k zmenšeniu priemeru kardiomyocytov ľavej komory (Griffioen et al. 2012).

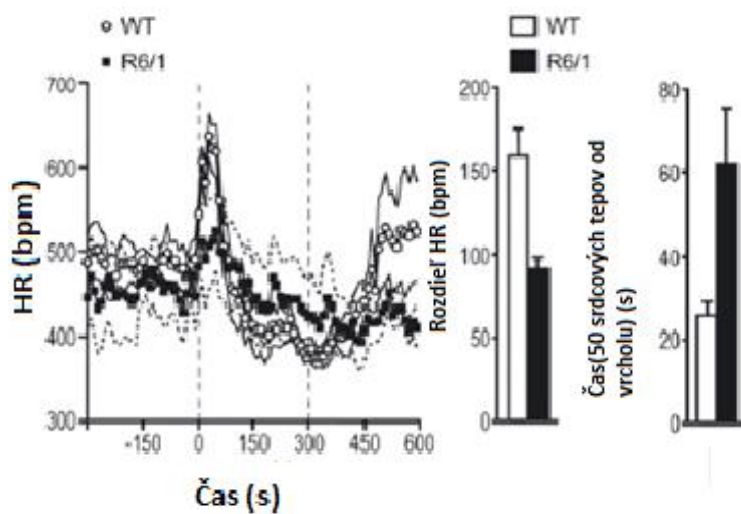


Obr.3 Veľkosť srdca u R6/1 myši v porovnaní s WT (prevzaté z Mihm et al. 2007)

U HD myši nastáva aj zmena výkonu srdca, konkrétne, systolický a diastolický srdcový výkon u R6/2 myši je výrazne redukovaný, a to už od 8. týždňa a vekom sa postupne tento stav zhoršuje, až nakoniec v 12. týždni dochádza k 50% -mu zníženiu srdcového výkonu (Mihm et al. 2008).

Významným charakteristickým znakom HD je dysregulácia ANS (Autonómny Nervový systém), ktorá môže postihnúť jej sympatickú aj parasympatickú vetvu (Bär et al. 2008). Niektoré štúdie dokonca uvádzajú prevahu sympatickej aktivity nad parasympatickou (Mesec et al. 2004; Bär et al. 2008). Narušením ANS dochádza v srdci HD pacientov k viacerým zmenám, napríklad k chaotickému srdečnému rytmu (HR), k nedostatku

normálnej nočnej variácie HR, dokonca môže dochádzať k niekoľkým typom arytmií, čo vedie niekedy k náhlej arytmickej smrti (Kiriazis et al. 2012). Významné odlišnosti medzi kontrolami a subjektmi trpiacimi Huntingtonovou chorobou sú v zmene srdčej frekvencie, spôsobenej reakciou na stres (Kiriazis et al. 2012; Griffioen et al. 2012). V neskorších fázach choroby dochádza k zmiernenej reakcii pri pôsobení stresu, teda vrchol srdcovej frekvencie u HD myši pri odpovedi na stres je výrazne nižší ako u WT a následne u HD myši dochádza k pomalšiemu návratu k pôvodnému stavu (Graf 1). Spomalený návrat k pôvodnému stavu bol preukázaný aj u myši v miernejšom štádiu choroby, ale v tejto fáze choroby ešte nedochádza k zmenšeniu vrcholu srdcovej frekvencie oproti kontrolám (Kiriazis et al. 2012).



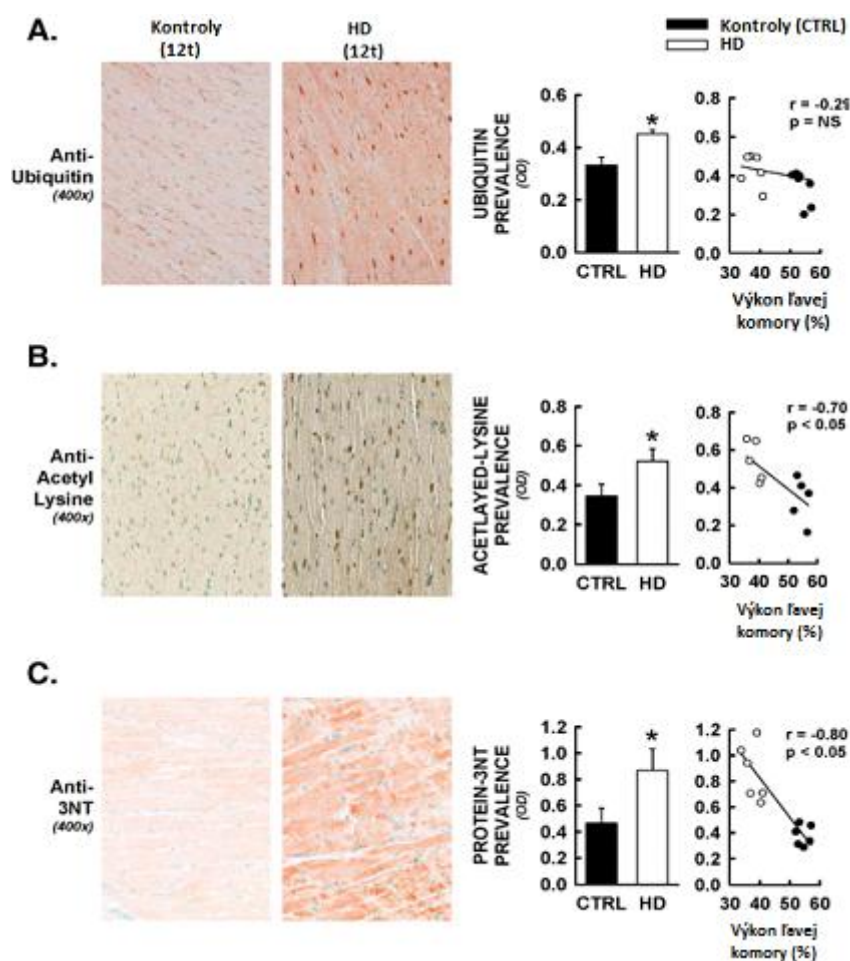
Graf 1:
graf znázorňuje rozdielne reakcie šesť a pol mesačných myši HD (R6/1) a WT na stres spôsobený pohybom (prevzaté z Kiriazis et al. 2012)

Možné faktory spôsobujúce srdcové dysfunkcie:

1) Zmena proteínov posttranslačnou modifikáciou. V srdci poškodenom mutovaným Htt dochádza aj k zmenám proteínov posttranslačnou modifikáciou. V HD srdci dochádza k výraznému zvýšeniu ubiquitínu, a to v cytosole aj v jadre. Ubiquitín asociuje s intranukleárnymi Htt agregátmi v HD neurónoch, ale nekoreluje to so zmenami výkonu ľavej komory (Obr. 4-A).

Taktiež dochádza k zvýšenej proteínovej acetylácii u 12 týždňových HD myši, v tomto prípade už rozsah acetylácie lyzínu koreluje s funkčnosťou ľavej komory (Obr. 4-B).

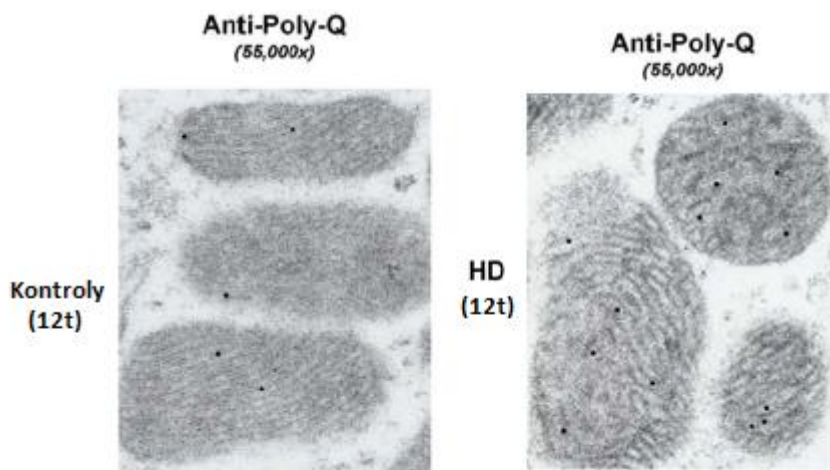
Proteínová nitrácia, čo je marker oxidačného stresu, je významne vyššia u srdcového tkaniva HD myši a zároveň je tu tiež negatívna korelácia medzi proteínovou nitráciou v srdci a výkonom ľavej komory (Obr. 4-C) (Mihm et al. 2008).



Obr. 4: Zmeny v proteínoch posttranslačnými modifikáciami. (prevzaté z Mihm et al. 2007)

2) Poruchy funkcie mitochondrií srdcového tkaniva

Sú známe poruchy metabolizmu mitochondriálnej funkcie a energie v širokom spektre tkanív u HD (Sassone et al. 2009). Taktiež aj v srdcovom tkanive u R6/2 myši a WT myši boli určité rozdiely. Pomocou elektrónovej mikroskopie sa zistilo, že R6/2 myši mali mitochondrie okrúhlejšie a ich optická denzita nebola tak konštantná ako u WT myši, ktorých mitochondrie mali skôr eliptický tvar (Obr.5) (Mihm et al. 2008). Tieto zistenia naznačujú, že mitochondriálna dysfunkcia, a s tým spojený oxidačný stres, by sa mohli podieľať na srdcových poruchách u HD. Boli tiež zaznamenané ultraštruktúrne zmeny mitochondrií v bunkách hladkého svalstva ciev, konkrétne v tunica media, kde u R6/1 myši boli mitochondrie zväčšené (Rahman et al. 2013).

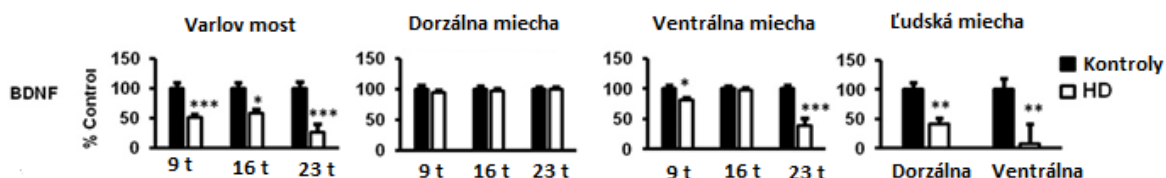


Obr.5 Elektrónovou mikroskopiou vyhotovené snímky mitochondrií zo srdcového tkaniva *WT (CTRL)* myši a *R6/2* myši (prevzaté z Mihm et al. 2007)

3) Zmeny mozgového neurotrofného faktoru BDNF

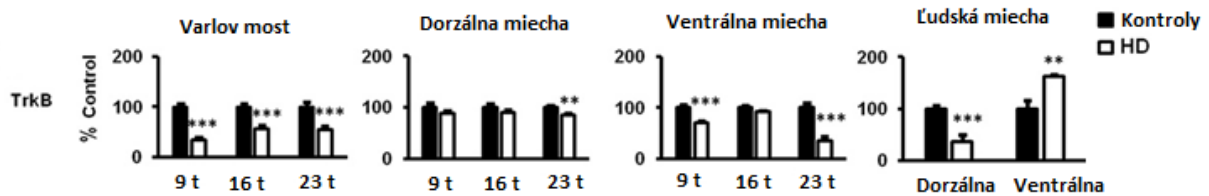
BDNF je nízkomolekulárny proteín, ktorý patrí medzi rodinu neurotrofinov a má významnú úlohu pri maturácii nezrelých neurónov. Na jeho transkripčnej kontrole sa nepriamo podieľa aj Htt (Zuccato, Valenza, and Cattaneo 2010). Jeho hladina je výrazne znížená v mozgu pacientov aj HD myši (Griffioen et al. 2012).

Práca Griffioena a spolupracovníkov naznačuje aj možnú spojitosť medzi zmenou BDNF signalizácie v oblasti mozgového kmeňa, zodpovednej za kardiovaskulárnu kontrolu, a zmenu srdcovej frekvencie. V tejto štúdií sa preukázala dysregulácia srdcového rytmu u HD myši (N171-82Q) počas stresu a znížená hladina BDNF v oblasti zodpovednej za kardiovaskulárnu kontrolu, a to presne v pontine nucleí a ventrálnej mieche, zatiaľ čo v dorzálnom jadre bola hladina BDNF nezmenená. U HD pacientov boli tiež pozorované nižšie hladiny BDNF, no v tomto prípade okrem ventrálnej miechy bola hladina znížená aj v dorzálnej (Graf 2). Tieto všetky zmeny boli pozorované vo všetkých fázach choroby, teda už od presymptomatickej.



Graf 2: porovnanie hladín BDNF v rôznych častiach mozgu u HD myši a u človeka (prevzaté z Griffioen et al. 2012)

Okrem toho dochádza k zníženiu receptorov pre BDNF zvaných TrkB, a to u HD myší vo významnejšej miere vo varlovom moste a ventrálnej mieche, zatiaľ čo u HD pacientov naopak dochádza k zníženiu TrkB receptorov vo ventrálnej a k výraznému zvýšeniu v dorzálnnej (Graf 3). Tiež bola znížená aj hladina mRNA, ako pre BDNF, tak pre jeho receptor (Griffioen et al. 2012).



Graf 3: porovnanie hladín TrkB v rôznych častiach mozgu u HD myší a u človeka.
(prevzaté z Griffioen et al. 2012)

Po dodaní BDNF sa srdečná frekvencia u HD myší napravila a nadobudla podobné hodnoty ako WT (Griffioen et al. 2012), čo naznačuje, že znížená hladina BDNF by mohla mať do určitej miery vplyv na srdečné poruchy u HD pacientov. Táto hypotéza je podporená aj tým, že bol odhalený polymorfyzmus BDNF, konkrétne Val66Met, kde nosiči tejto alely vykazujú sympatetickú dominanciu a tiež miernejšie zvýšenie HR pri odpovedi na stres (Yang et al. 2010; Alexander et al. 2010)

3. Kostrový sval

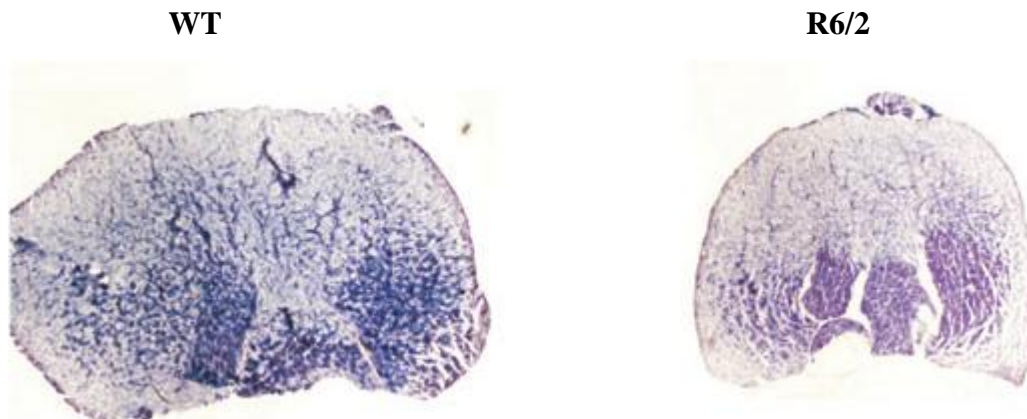
Medzi ďalšie vážne poškodené periférne tkanivá patrí aj priečne pruhovaná svalovina kostrového systému. U R6/2 myši je pozorovaných niekoľko abnormálnych pohybových znakov: majú neprirodený pohyb zadných končatín, v 12. týždni života sú značne slabšie ako ich zdraví súrodenci, majú problémy s plávaním a nižšiu výkonnosť na obežnom kolese (Ribchester et al., 2004).

Tiež sa vyskytuje veľmi často svalové plytvanie u pacientov (Hamilton et al., 2004, Turner et al. 2007), aj u HD myši (Sathasivam et al. 1999). Svalové plytvanie bolo pozorované aj v novšej štúdií, kde in vivo stanovený stupeň syntézy proteínov bol o 19 % vyšší v lýtkovom svale u 12 týždňových R6/2 myši oproti kontrolám. Ďalej bola tiež zvýšená mTOR signalizácia, ktorá v konečnom dôsledku spúšťa bunkovú proteosyntézu a proliferáciu. Bolo zistené, že Akt proteín expresia a Akt fosforilácia v bazálnom stave a po stimulovaní inzulínom boli výrazne zvýšené vo svale HD myši. Pričom AMPK fosforilácia vo svale bola znížená, čo naznačuje zníženú AMPK aktivitu. Obe tieto zistenia ukazujú na molekulárnu podstatu zvýšenej mTOR signalizácie pozorovanej vo svale (She et al. 2011). Zvýšená proteín syntéza je pravdepodobne výsledok zvýšeného energetického nákladu u HD myši.

Štúdie Busse et al. (2008) vyhodnocovali svalovú silu pomocou ručného dynamometra u 20 HD pacientov. Osoby trpiace HD mali v priemere o polovicu menej sily ako zdravé kontroly. Výrazne slabšie boli vo všetkých svalových skupinách pre obe strany a ich silové skóre koreluje s ich motorickým postihnutím.

K výrazným rysom u zvieracích modelov (Ribchester et al. 2004), aj u pacientov poškodených HD (Sanberg, Fibger, and Richard 1981) patrí svalová atrofia, ktorej príčina zostáva stále neznáma. Ribchester a spolupracovníci pozorovali atrofiu zadných končatín kostrového svalu u 12 týždňových R6/2 myši a v 15. týždni už bola táto atrofia veľmi vážna, v 16. týždni bola generalizovaná atrofia vo všetkých svalových vláknach (Obr.6). Atrofia postihuje ako vlákna I. typu (pomalé oxidačné „červené“ vlákna s vysokým obsahom myoglobínu), tak vlákna II. typu (rýchle glykolitické vlákna so strednou a nízkou oxidačnou kapacitou) (Ribchester et al. 2004; Gizatullina et al. 2006). Aj napriek tomu, že sa atrofia vyskytuje v oboch typoch vlákien, je u R6/2 myši zmenený pomer vlákien typu I a typu II v prospech vlákien typu I. Kým u WT myši je zastúpenie vlákien I. typu 51 \pm 2%, tak u R6/2 myši je to 81,8 \pm 2,1%. No neboli zaznamenané znaky degenerácie, ani žiadne

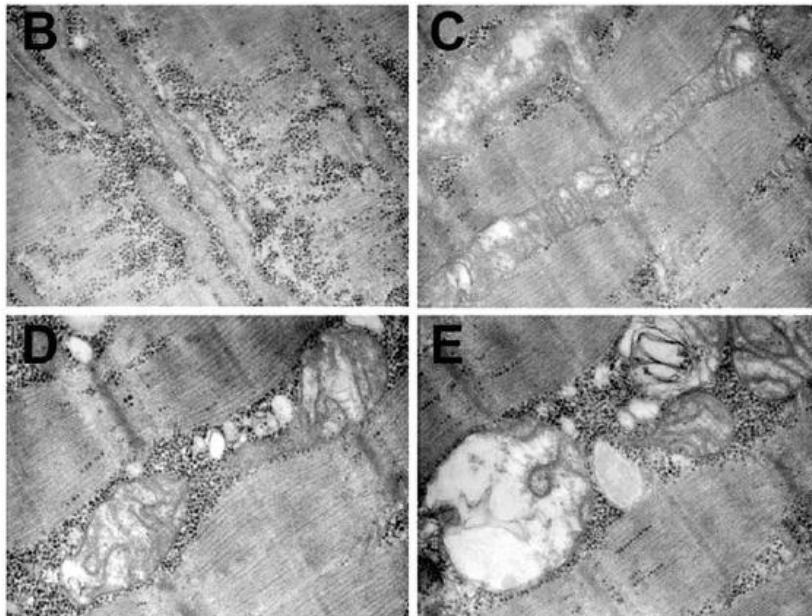
markery zmien v zoskupení svalových vlákien. Zdá sa, že vlákna II. typu sú premenené na vlákna typu I počas procesu svalovej atrofie (Ribchester et al. 2004).



Obr.6 *Atrofia kostrového svalu u HD myši (prevzaté z Ribchester et al., 2004)*

Pomocou elektrónovej mikroskopie boli zistené myopatické zmeny, a to konkrétne takzvané „moth-eaten“ vlákna, hranatosť vlákien, zvýšená subsarkolemálna oxidatívna aktivita, zvýšený počet mitochondrií s abnormálnymi kristami. To, prečo tieto zmeny nastávajú, nie je známe, ale čiastočne to môže súvisieť s nerovnováhou medzi množstvom energetických zásob a metabolickými požiadavkami svalových buniek. Ďalšie možné vysvetlenie môže byť, že mutovaný Htt môže narušiť cytoskeletálne kotvenie, alebo transport z mitochondrií (Arenas et al. 1998). Zároveň boli pozorované abnormality neurovosvalovej platničky u starších R6/2 myši (Ribchester et al. 2004).

Priemer svalového vlákna u 8 týždňových R6/2 myši je o niečo menší než u WT myši a postupom veku sa stále znižuje, až v 16. týždni je už priemer vlákien o polovicu menší u R6/2 myši oproti WT myšiam v rovnakom veku (Ribchester et al. 2004). No v jednej štúdií neboli vykazované výrazné histologické abnormality, až na jedného pacienta, ktorý ale bol najstarší a k tomu patril medzi pacientov s najvážnejším postihnutím. Tento pacient mal nadbytok SDH pozitívneho a COX negatívneho vlákna, a to o 10% viac ako by sa v jeho veku očakávalo (Turner, Cooper, and Schapira 2007). Štruktúrne abnormality boli tiež pozorované v novších štúdiách, kde u 2 pacientov boli nájdené pretiahnuté mitochondrie s poruchami a nedostatkom krist a postupne dochádzalo k strate matrixovej hmoty a praskaniu zvyšných krist (Obr.2)(Andrea Ciammola et al. 2011).



Obr.7 Poškodenie mitochondrií
 Obrázky vyhotovené elektrónovou mikroskopiou ukazujú predĺžené mitochondrie s porušenými kristami a vakuolami (B a C), nafúknuté mitochondrie s výraznou stratou matrixovej hmoty (D a E) a porušenie zbytkových krist (E) (prevzaté z Andrea Ciammola et al. 2011)

Rovnako ako v mozgu a viacerých tkanivách HD subjektov, tak aj vo svalových vláknach sa nachádzajú poly(Q) inklúzie (Sathasivam et al. 1999). V in vitro bunkách HD pacientov získaných po pitve boli nájdené mikroskopicky viditeľné inklúzie imunoreaktívnych Htt (Saft et al. 2005). Rovnako boli zistené v in vitro bunkách kostrového svalstva získaných z R6/2 myši (Orth et al. 2003).

Keďže R6/2 myši majú v kostrových svaloch poly(Q) agregáty, ich rozširovanie spôsobuje interakciu s histon acetyltransferázami a ďalšími transkripčnými proteínmi v mozgu a bunčných kultúrach. V prípade interakcie s histon acetyltransferázami, ktoré rozvoľňujú chromatín, čím umožňujú transkripciu, môže dochádzať k zmene génovej expresie. V jednej štúdií bola porovnávaná génová expresia u R6/2 myši oproti rovnako starým kontrolám. Výsledkom bolo, že v približne 2% posudzovaných mRNA bolo detekované rôzne množstvo u HD myši v porovnaní s kontrolami. mRNA, ktorých bolo vo svale R6/2 myši viacej, odpovedali proteínom spojených so stresovou odpoveďou na rozširovanie poly(Q), boli to hlavne enzýmy spojené s ubiquitínom – degradačné, alebo DNA-opravné enzýmy. Naopak mRNA, ktorých bolo vo svale R6/2 myši menej než u kontrol, boli markery konečnej diferenciácie svalov (napr. myoD, aktín, ľahký reťazec myozínu a troponín), mRNA kódujúce metabolické enzýmy (napr. aldoláza, keratín kináza, enoláza) a mRNA kódujúce molekuly prenášajúce signál (napr. cAMP-špecifická fosfodiesteráza, fosfatidylinositol glykan) (Luthi-carter et al. 2002).

Génová expresia bola študovaná tiež v porovnaní R6/2 myši, Hdh^{CAG(150)} a ľudských HD pacientov, kde u všetkých skúmaných skupín boli identifikované bežné zmeny v génovej expresii. Bolo pozorované zníženie expresie glykolitických enzýmov, mRNA pre rýchle myofibrilárne vlákna a došlo k zvýšeniu expresie mRNA vzťahujúcej sa k metabolizmu lipidov a pomalých myofibrilárnych vlákien. Pričom R6/2 myši boli vážnejšie zasiahané ako Hdh^{CAG(150)} myši a tiež to bolo závislé od veku, kde staršie R6/2 myši boli vážnejšie zasiahané ako mladšie R6/2 myši (Strand et al. 2005).

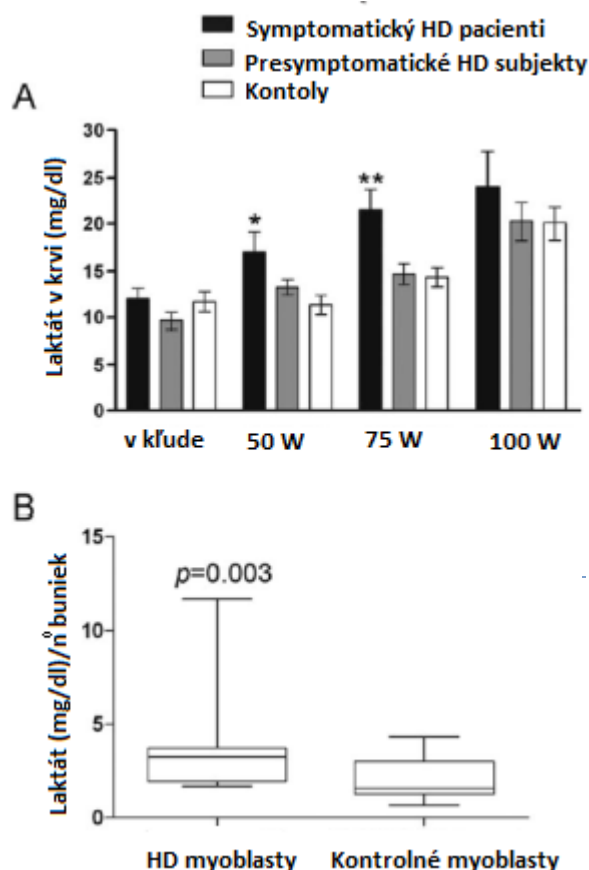
V niekoľkých prácach bola u postihnutých jedincov preukázaná apoptóza vo svalových bunkách. U HD subjektov bola pozorovaná mitochondriálna depolarizácia, uvoľňovanie cytochromu c do cytosolu, zvýšenie aktivity kaspázy -3,-8,-9 (Ciammola et al. 2006). V novej štúdií bolo zistené dvojnásobne zvýšenie hladiny mRNA pre kaspázu -1, -3,-6 a až 4,5 násobne pre kaspázu -9. Došlo aj k zvýšeniu mRNA pre receptor Fas, jeho ligand FasL, a Fas viažuce smrteľnú doménu FADD. Tiež bolo potvrdené uvoľňovanie cytochromu c (She et al. 2011).

Poškodenia energetického metabolizmu

Viacere štúdie sa zaoberali poruchami v energetickom metabolizme ako u HD pacientov, tak u zvieracích modelov. Boli pozorované variabilné poruchy v komplexe I (NADH ubichinon-reduktázy) dýchacieho reťazca a závažnosť týchto poškodení bola v rozmedzí od 25% do 63% u HD pacientov. Pričom pacienti s najdlhšou expanziou CAG opakovaní mali najzávažnejšie poškodenia komplexu I, čo naznačuje, že veľkosť polyglutamínovej domény môže mať kvantitatívny vplyv na enzymatickú funkciu komplexu I (Arenas et al. 1998). Ale v porovnaní s tým, v práci Turnera neboli nájdené špecifické deficity tohto komplexu oproti kontrolnej skupine. V práci je naznačené, že tieto odlišnosti v jednotlivých štúdiách môžu byť vysvetlené väčším počtom sledovaných subjektov a širokým rozsahom klinickej závažnosti (Turner, Cooper, and Schapira 2007).

Ďalšie výsledky potvrdzujúce energetické poruchy boli získané pomocou použitia 31P-MRS (31P spektroskopiu magnetickej rezonancie) a bolo zistené výrazné zníženie pomeru fosfokreatínu k anorganickému fosfátu v kľudovom svale (Koroshetz et al. 1997), čo potvrdila aj neskoršia štúdia (Lodi et al. 2000). Tiež bolo preukázané zníženie pomeru ATP/(PCr+Pi) o 9% u pacientov trpiacich HD a toto zníženie bolo pozorované aj u presymptomatických pacientov a naznačuje to, že obsah ATP vo svale je u pacientov nižší než u kontrol. Skúmali aj maximálnu mieru produkcie mitochondriálneho ATP počas zotavovania sa z cvičenia a bol zistený úbytok o 35% u presymptomatických pacientov a až

o 44% u symptomatických pacientov, a teda defekt ATP syntézy v kostrovom svale koreluje s dĺžkou CAG repetíciami (Lodi et al. 2000). Obnova fosfokreatínu u HD pacientov s klinickým prejavom po aerobnom cvičení bola predĺžená o 49% a po anaerobnom cvičení bola predĺžená o 39%. U asymptomatických nosičov mutácie toto zvýšenie bolo o 40% a 43% (Saft et al. 2005). Ďalej výsledky Turnera a spolupracovníkov demonštrujú negatívnu koreláciu medzi komplexom II/III: k cytrát syntáze a poškodením kognitívnych funkcií, vekom a trvaním choroby u pacientov (Turner, Cooper, and Schapira 2007). V novších štúdiách bola sledovaná koncentrácia laktátu v krvi pri rôznych stupňoch zaťaženia. V kľude neboli hodnoty plazmatického laktátu príliš odlišné medzi HD subjektmi a kontrolami, ale pri 50 a 75 watoch už došlo k signifikantnému zvýšeniu u symptomatických HD pacientov oproti kontrolám. Taktiež, koncentrácia laktátu v médiu HD kultúry bola výrazne vyššia ako v médiu s kontrolnou kultúrou (Graf 4) (Andrea Ciammola et al. 2011). Tieto všetky výsledky dokazujú, že výkonosť energetického metabolizmu je znížená a narušená, ale aj tak stále zostáva jeho funkcia v patogenézy nejasná.



Graf. 4

(A) koncentracia laktátu v krvi počas záťažového testu u symptomatických presymptomatických pacientov v porovnaní s kontrolami (B) koncentrácia laktátu v bunčnej kultúre u HD myoblastov a kontrolných myoblastov (prevzaté z Andrea Ciammola et al. 2011).

4. Endokrinný systém

Endokrinný systém je systém žliaz s vnútornou sekréciou, vylučujúcich postupne špecifické látky – hormóny, ktoré sa krvou dostávajú na miesto pôsobenia. Ich hlavnou úlohou je udržiavanie homeostázy, pričom jednotlivé súčasti ES sú regulované prostredníctvom hypotalamu. A práve u HD pacientov a zvieracích modelov boli zistené poškodenia mutovaným Htt ako v hypotalame a hypofýze (Petersén and Björkqvist 2006) tak v nadobličkách (Sathasivam et al., 1999), pankreatických ostrovčekoch (Andreassen et al. 2002) a tukovom tkanive (Djoussé et al. 2002). V tejto kapitole sa budeme venovať hlavne poškodeniam tukového tkaniva u HD subjektov a v menšej miere dysfunkcii nadobličiek a pankreasu.

4.1 Nadobličky

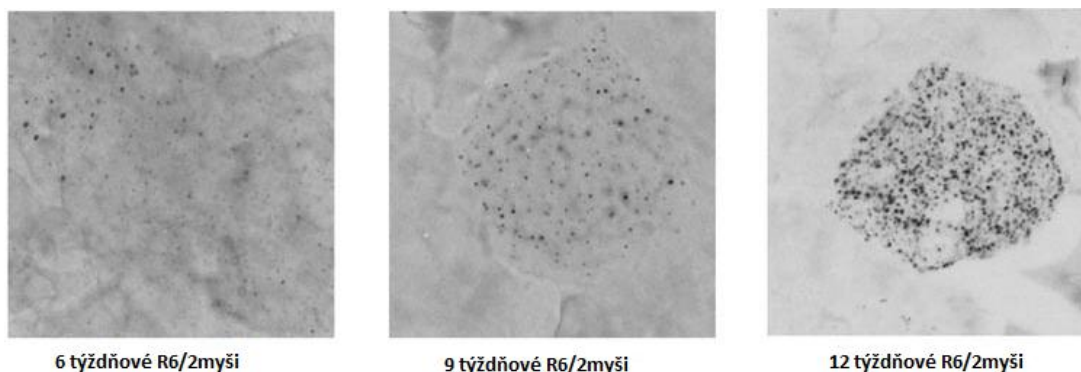
Nadobličky sú párový endokrinný orgán, ktorý sa skladá z drene a kôry, pričom dreň produkuje katecholamíny a kôra mineralokortikoidy a glukokortikoidy. Práve vysoká hladina kortizolu (glukokortikoid) bola zistená v krvi HD pacientov (Leblhubr et al. 1995) čo tiež môže prispievať k zhoršenému metabolizmu glukózy.

Po prevedení histologického vyšetrenia nadobličiek R6/2 myši boli pozorované inklúzie Htt v retikulárnej vrstve kôry (Sathasivam et al., 1999). Björkqvist a spolupracovníci po mikroskopickej analýze nadobličiek R6/2 myši zistili, že kôra nadobličiek má zvýšený objem, a to od 7 týždňa. Taktiež pozorovali, že nadobličky HD myši vážia viac ako nadobličky WT myši, v 12 týždni je to až o 37% viac.

4.2 Pankreas

Pankreas sa skladá z exokrinnej aj endokrinnej časti. Endokrinnú časť tvoria Langerhansove ostrovčeky, ktoré obsahujú niekoľko buniek, hlavne beta bunky produkujúce inzulín a alfa bunky produkujúce glukagon. Pankreatické ostrovčeky boli skúmané u R6/2 myši a zistilo sa, že v β -bunkách dochádza k zhukovaniu intranukleárných inklúzií a vekom sa počet inklúzií ešte zväčšuje (Obr.8). Paralelne s tým sa vyvíjajú aj poruchy v produkcii inzulínu, dochádza k zníženiu hladiny génovej expresie inzulínu u R6/2 myši (Andreassen et al. 2002). Táto skutočnosť môže viesť k zníženej hladine inzulínu v plazme pozorovanej v štúdiu Hulberta, kde pozorovali na R6/2 myšiach znaky typické pre diabetes ako napríklad hyperglykémii a narušenie glukózovej tolerancie (Hulbert et al. 1999). U R6/2 myši bola

pozorovaná aj znížená inzulínová exocytóza v β -bunkách pankreasu a zníženie počtu intracelulárnych sekrečných vakuol (Björkqvist et al. 2005).



Obr.8. zobrazenie intranukleárných inklúzií v pankreatických ostrovčekoch u R6/2 myši v rôznych vekových štádiách (prevzaté z Andreassen et al. 2002).

Zvýšený výskyt diabetes bol pozorovaný aj u HD pacientov. Z práce Ristowa a spolupracovníkov sa zistilo, že u HD pacientov sa diabetes mellitus vyvíja až sedemkrát častejšie než u kontrol (Ristow 2004). Zvýšený výskyt diabetes bol pozorovaný aj v ďalších štúdiách u HD pacientov (Podolsky and Leopold 1977; Farrar 1985) a na R6/1 myšiach, ktoré vykazovali chybnú glukózovú toleranciu pravdepodobne zapríčinenú redukciou β -buniek a abnormálnym uvoľňovaním inzulínu (Josefsen et al. 2008).

Zaujímavé je, že naopak v štúdií Bacosa a kolektívu neboli nájdené žiadne histologické zmeny v pankrease a ani nebola zmenená hladina inzulínu oproti kontrolám (Bacos et al., 2008). Rovnako dysfunkcie pankreasu neboli potvrdené v štúdií z roku 2001, kde nepozorovali u R6/2 myši žiadne známky rozvíjajúceho sa diabetu (Fain et al., 2001).

4.3 Tukové tkanivo

Tukové tkanivo je jeden z hlavných endokrinných a sekrečných orgánov, ktorý vylučuje proteíny adipokiny, pod ktoré patria aj hormóny ovplyvňujúce príjem potravy a výdaj energie, a to leptín a adiponektín (Trayhurn and Wood 2005), ktoré si spolu s orexigenickým hormónom ghrelinom popíšeme nižšie.

Charakteristickým symptómom u pacientov trpiacich Huntingtonovou chorobou je práve výrazná strata telesnej hmotnosti (Sanberg, Fibger, and Richard 1981), ktorá je pozorovaná rovnako u HD zvieracích modelov (Phan et al., 2009). K úbytku na váhe dochádza postupne ako chorea postupuje (Hamilton et al., 2004) a taktiež to koreluje s dĺžkou CAG opakovaní (Aziz et al. 2008). No rovnako ako v iných tkanivách presná príčina nie je

stále známa. Zaujímavé je, že hoci dochádza k úbytku hmotnosti, jedna štúdia zistila, že R6/2 myši majú väčšie percento telesného tuku a taktiež väčší sklon k ukladaniu tuku ako WT myši (Fain et al., 2001).

Leptin

Leptin je hormón vylučovaný tukovým tkanivom, ktorý reguluje výdaj a príjem energie. V hypotalame pôsobí anorexigénne, a teda tlmí chuť k jedlu a zvyšuje energetický výdaj. Práve produkcia tohto hormónu je u HD subjektov narušená.

V roku 2001 zistila výskumná skupina Faina, že uvoľňovanie leptínu v tukovom tkanive vyvolané inzulínom je značne vyššie u R6/2 myši než u kontrol. Pričom po podaní inzulínu bolo u kontrol zvýšenie leptínu oproti bazálnej hladine na 146% a u HD myši až na 284% (Fain et al., 2001). Naopak iná výskumná skupina zistila u HD pacientov zníženú hladinu leptínu v plazme (Popovic et al., 2004). Znížená hladina leptínu bola taktiež preukázaná u myších HD modelov, a to konkrétne na R6/2 myšiach a CAG140 knock-in myšiach (Phan et al., 2009). V nedávnej štúdií dokonca zistili, že produkcia leptínu je zvýšená s vyšším počtom CAG opakovaní. Preto u HD pacientov, ktorí majú vyšší počet CAG opakovaní, táto zvýšená produkcia leptínu môže viesť k zníženiu apetítu a hypermetabolizmu a tak prispievať k väčšiemu úbytku váhy u týchto pacientov (Graaf et al., 2010). Zaujímavým zistením je aj to, že bežne sa hladina cirkulujúceho leptínu aj génová expresia leptínu zvyšuje s vyšším obsahom telesného tuku BMI (body mass index), čo ale nebolo u HD pacientov pozorované (Graaf et al. 2010). Chýbanie tejto pozitívnej korelácie medzi hladinou leptínu a BMI bolo potvrdené aj v najnovšej štúdií, a to ako u pacientov v klinickej aj preklinickej fáze Huntiktonovej choroby (Wang et al., 2014).

Ghrelín

Ghrelín je peptidový hormón produkovaný bunkami žalúdka, ktorý zvyšuje chuť k jedlu, proto je tiež nazývaný hormón hladu. Oproti leptínu má opačný efekt na špecifickú populáciu hypotalamických neurónov, ktoré hrajú úlohu v regulácii energetického príjmu a výdaja. V prípade ghrelínu bola zistená zvýšená hladina v plazme HD pacientov oproti kontrolnej skupine, no rovnako ako u leptínu neboli zaznamenané zmeny koncentrácie ghrelínu v CSF (Popovic et al. 2004). V najnovšej štúdií bolo preukázané zvýšenie hladiny ghrelínu aj u pre-manifest pacientov (Wang et al. 2014).

Adiponektín

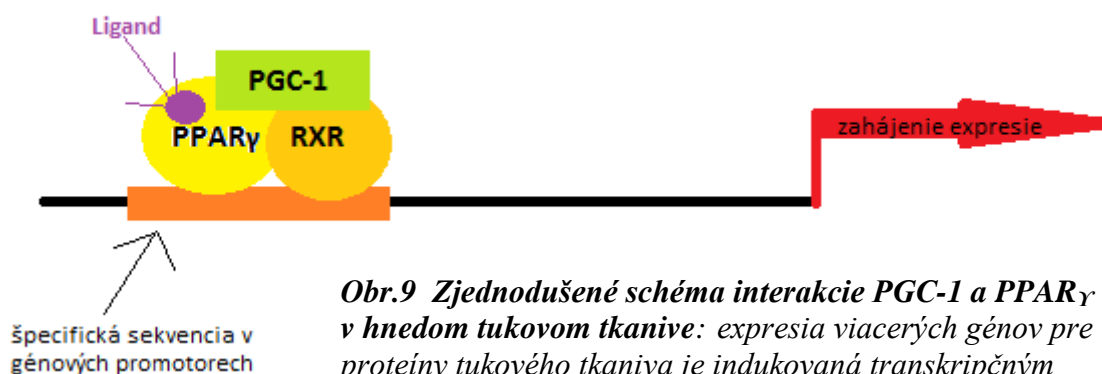
Adiponektín je hormón, ktorý je tiež produkovaný bunkami tukového tkaniva – adipocytmi. Ovplyvňuje metabolizmus sacharidov a lipidov a zvyšuje citlivosť tkanív k inzulínu. Hladina tohto hormónu bola preukázateľne znížená u R6/2 myši aj u CAG140 knock-in myši (Phan et al., 2009), no v novej štúdií z roku 2014 pozorované zmeny hladiny adiponektínu v porovnaní s kontrolami neboli. Ale rovnako ako u leptínu tak aj v prípade adiponektínu u HD pacientov nebola nájdená korelácia medzi adiponektínom a BMI, ktorá by za normálnych okolností mala byť negatívna (Wang et al. 2014).

Zmeny v génovej expresii v tukovom tkanive

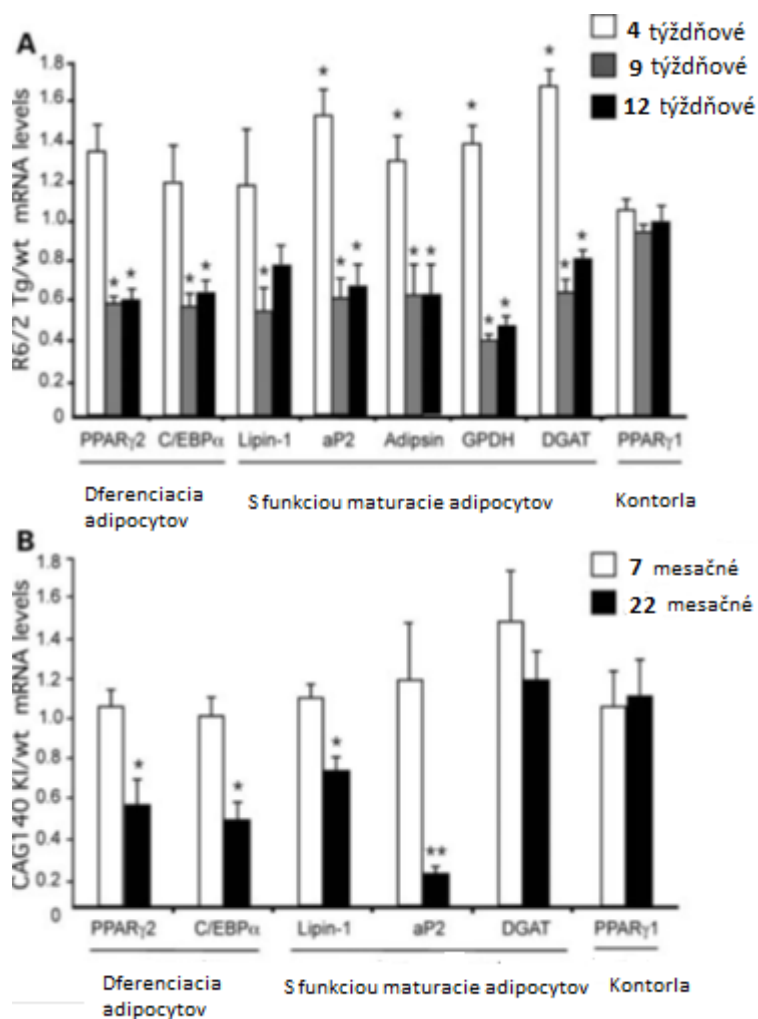
Phan a spolupracovníci odhalili zmeny génovej expresie v tukovom tkanive u R6/2 myši a u CAG140 knock-in myši, kde sa zamerali na kľúčové adipogénne transkripčné faktory- PPAR γ , gény zásobných proteínov a gény charakteristické pre maturáciu adipocytov. Vo všetkých prípadoch došlo k zníženiu génovej expresie (Graf 5) (Phan et al. 2009).

V rovnakej štúdií zistili pokles expresie PGC-1 α a PGC-1 β proteínu v tukovom tkanive R6/2 myši a to hlavne v pokročilejšom štádiu choroby (Phan et al., 2009). PGC-1 hrá kľúčovú úlohu v transkripčnej aktivite génov v tukovom tkanive, ale aj v srdci a kostrovom svale (Lin et al.). PGC-1 je ko-aktivátor transkripčného faktoru PPAR γ (obr.9).

Taktiež objavili, že mutovaný Htt interferuje práve s PGC-1 v kultúre adipocytov, čo udávajú ako jednu z možných dôvodov chybnej génovej expresie (Phan et al., 2009).



Obr.9 Zjednodušené schéma interakcie PGC-1 a PPAR γ v hneďom tukovom tkanive: expresia viacerých génov pre proteíny tukového tkaniva je indukovaná transkripčným faktorom PPAR γ a tento TF nasadá na špecifickú sekvenču v dimére s receptorom RXR, potom receptor v tomto heterodimére reaguje s koaktivátorom PGC-1 a následná transkripcia je pustená až po väzbe ligandu.



Graf 5

Znázornenie hodnôt mRNA pre jednotlivé proteíny, ktoré sledovala skupina Phan a ďalší u R6/2 myši (A) a u CAG140 knock-in myši (B) (prevzaté z Phan et al., 2009).

Záver

Množstvo štúdií naznačilo, že mutovaný Htt má škodlivý efekt nie len na CNS, ktorý je hlavným objektom skúmania, ale aj na periférne tkanivá. Jedny z najviac poškodených sú kardiovaskulárny systém, kostrový sval a tukové tkanivo. Aj napriek rozsiahlym štúdiám nie sú stále známe presné mechanizmy, akými mutovaný Htt poškodzuje tkanivá.

Hoci ešte stále neexistuje adekvátne liečba pre HD pacientov, vďaka skúmaniu vplyvu mutovaného Htt na periférne tkanivo je aspoň možnosť čiastočnej liečby jednotlivých poškodení a tým skvalitnenie ich života.

Prínosom týchto štúdií je aj fakt, že niektoré poškodenia periférneho tkaniva sú pozorovateľné ešte v predklinickom štádiu HD pacientov, a tak môžu slúžiť ako markery na diagnostikovanie choroby.

Experimentálne zvieratá, ktoré boli doposiaľ k výskumu používané, boli predovšetkým myši. Preto by bolo dobré podobné štúdie realizovať aj na experimentálnom modeli transgénneho miniatúrneho prasťa s Huntingtonovou chorobou, ktoré je vo viacerých aspektoch bližšie človeku, než modely hlodavcov.

Referencie

- Alexander N., R. Osinsky, A. Schmitz, E. Mueller, Y. Kuepper, and J. Hennig.** 2010. "The BDNF Val66Met Polymorphism Affects HPA-Axis Reactivity to Acute Stress." *Psychoneuroendocrinology*, 35, 949–53.
- Andreassen O., A. Dedouglu, V. Stanovjevic, D. Huges, S. Browne, C. Leech, R. Ferrante, J. Habaner, M. Beal, and M. Thomas.** 2002. "Huntington's Disease of the Endocrine Pancreas: Insulin Deficiency and Diabetes Mellitus due to Impaired Insulin Gene Expression." *Neurobiology of Disease*, 11, 410–24.
- Arenas J., Y. Campos, R. Ribacoba, M. A. Martín, J. C. Rubio, P. Ablanedo, and A. Cabello.** 1998. "Complex I Defect in Muscle from Patients with Huntington's Disease." *Annals of Neurology*, 43, 397–400.
- Bacos K., M. Björkqvist, Å. Petersén, Len. Luts, M. L. C. M. Raymund, A. C. R. Frank, P. Brundin, H. Mulder, and N. Wierup.** 2008. "Islet -Cell Area and Hormone Expression Are Unaltered in Huntington ' S Disease." *Histochem Cell Biol*, 129, 623–29.
- Bär K. J., M. K. Boettger, J. Andrich, J. T. Epplen, F. Fischer, J. Cordes, M. Koschke, and M. W. Agelink.** 2008. "Cardiovagal Modulation upon Postural Change Is Altered in Huntington's Disease." *European Journal of Neurology*, 15, 869–871.
- Björkqvist M., M. Fex, E. Renström, N. Wierup, A. Petersén, J. Gil, K. Bacos, N. Popovic, J. Li, F. Sundler, P. Brundin, and H. Mulder.** 2005. "The R6/2 Transgenic Mouse Model of Huntington's Disease Develops Diabetes due to Deficient Beta-Cell Mass and Exocytosis." *Human Molecular Genetics*, 14, 565–574.
- Burg J. M. M., M. Björkqvist, and P. Brundin.** 2009. "Beyond the Brain : Widespread Pathology in Huntington ' S Disease." *The Lancet Neurology*, 8, 765–774.
- Cattaneo E., D. Rigamonti, D. Goffredo, Ch. Zuccato, and S. Sipione.** 2001. "Loss of Normal Huntingtin Function : New Developments in Huntington's Disease Research." *Trends in Neurosciences*, 24, 182–188.
- Cattaneo E., Ch. Zuccato, and M. Tartari.** 2005. "Noromal Huntingtin function: an alternative approach to." *Neuroscience*, 6, 919–30.
- Ciammola A., J. Sassone, L. Alberti, G. Meola, E. Mancinelli, M. A. Russo, F. Squitieri, and V. Silani.** 2006. "Increased Apoptosis, Huntingtin Inclusions and Altered Differentiation in Muscle Cell Cultures from Huntington's Disease Subjects." *Cell Death and Differentiation*, 13, 2068–78.
- Ciammola A., J. Sassone, M. Sciacco, N.E. Mencacci, M. Ripolone, C. Bizzi, C. Colciago, M. Moggio, G. Parati, V. Silani, and G. Malfatto.** 2011. "Low Anaerobic Threshold and Increased Skeletal Muscle Lactate Production in Subjects with Huntington's Disease." *Movement Disorders*, 26, 130–37.

- Cornett J., F. Cao, Ch. Wang, Ch. A. Ross, G. P. Bates, S. Li, and X. Li.** 2005. "Polyglutamine Expansion of Huntingtin Impairs Its Nuclear Export." *Nature Genetics*, 37, 198–205.
- Djousse L., B. Knowlton, L.A. Cupples, K. Marder, I. Shoulson, and R.H. Myers.** 2002. "Weight Loss in Early Stage of Huntington's Disease." *Neurology*, 59, 1325–1130.
- Duyao M. P., B. Auerbach, A. A. Ryan, F. Persichetti, G. T. Barnes, S. M. McNeil, J. P. G. Vonsattel, J. F. Gusella, A. L. Joyner, and M. E. MacDonald.** 1995. "Inactivation of the Mouse Huntington's Disease Gene Homolog Hdh." *Science*, 269, 407–410.
- Fain J. N., N. A. Del Mar, Ch. A. Meade, A. Reiner, and D. Goldowitz.** 2001. "Abnormalities in the Functioning of Adipocytes from R6 / 2 Mice That Are Transgenic for the Huntington's Disease Mutation." *Human Molecular Genetics*, 10, 145–52.
- Farrar L. A.** 1985. "Diabetes Mellitus in Huntington Disease." *Clinical Genetics* 27,62–67.
- Gizatullina Z. Z., K. S. Lindenberg, P. Harjes, Y. Chen, Ch. M. Kosinski, B. G. Landwehrmeyer, A. C. Ludolph, F. Striggo, S. Zierz, and F. N. Gellerich.** 2006. "Low Stability of Huntington Muscle Mitochondria against Ca²⁺ in R6 / 2 Mice." *Annals of Neurology*, 59, 411–415.
- Graaf A. W. M., F. Roelfsema, N. A. Aziz, H. Pijl, M. Fro, and A. C. Roos.** 2010. "Leptin Secretion Rate Increases with Higher CAG Repeat Number in Huntington's Disease Patients." *Clinical Endocrinology*, 73, 206–211.
- Griffioen K. J., R. Wan, T. R. Brown, E. Okun, S. Camandola, M. R. Mughal, T. M. Phillips, and M. P. Mattson.** 2012. "Aberrant Heart Rate and Brainstem Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Signaling in a Mouse Model of Huntington's Disease." *Neurobiology of Aging*, 33, 1481.e1–1481.e5.
- Gusella J., A. Frischauf, D. Housman, and J. Wasmuth et al.** 1993. "A Novel Gene Containing a Trinucleotide That Is Expanded and Unstable on Huntington's Disease Chromosomes." *Cell*, 72, 971–983.
- Hamilton J. M., T. Wolfson, G. M. Peavy, and M. W. Jacobson.** 2004. "Rate and Correlates of Weight Change in Huntington's Disease." *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 75, 209–212.
- Josefsen K., M. D. Nielsen, K. H. Jørgensen, T. Bock, A. Nørremølle, S. A. Sørensen, B. Naver, and L. Hasholt.** 2008. "Impaired Glucose Tolerance in the R6/1 Transgenic Mouse Model of Huntington's Disease." *Journal of Neuroendocrinology*, 20, 165–72.
- Kiriazis H., N. L. Jennings, P. Davern, G. Lambert, Y. Su, T. Pang, X. Du, L. L. Greca, G. A. Head, A. J. Hanan, and X-J Du.** 2012. "Neurocardiac Dysregulation and Neurogenic Arrhythmias in a Transgenic Mouse Model of Huntington's Disease." *The Journal of Physiology*, 22,5845–5860.
- Koroshetz W. J., B. G. Jenkins, B. R. Rosen, and M. F. Beal.** 1997. "Energy Metabolism Defects in Huntington's Disease and Effects of Coenzyme Q₁₀." *Annals of Neurology*, 41, 160–165.

- Kumar P., H. Kalonia, and A. Kumar.** 2010. "Huntington ' S Disease : Pathogenesis to Animal Models." *Pharmacological Reports*, 62, 1–14.
- Landles Ch., and G. P. Bates.** 2004. "Huntingtin and the Molecular Pathogenesis of Huntington's Disease." *EMBO Reports*, 5, 958–63.
- Leblhubr F., M. Peichl, C. Neubauer, F. Reisecker, F. X. Steinparz, E. Windhager, and W. Maschek.** 1995. "Serum Dehydroepiandrosterone and Cortisol Measurements in Huntington ' S Chorea." *Neurological Sciences*, 132, 76–79.
- Lodi R., A. H. V. Schapira, D. Manners, P. Styles, N. W. Wood, D. J. Taylor, and T. T. Warner.** 2000. "Abnormal In Vivo Skeletal Muscle Energy Metabolism in Huntington's Disease and Dentatorubropallidoluysian Atrophy." *Annals of Neurology*, 48, 72–76.
- Luthi-Carter R., S. A. Hanson, A. D. Strand, D. A. Bergstrom, W. Chun, N. L. Peters, A. M. Woods, E. Y. Chan, Ch. Kooperberg, D. Krainc, A. B. Young, S. J. Tapschott, and J. M. Olson.** 2002. "Dysregulation of Gene Expression in the R6 / 2 Model of Polyglutamine Disease : Parallel Changes in Muscle and Brain." *Human Molecular Genetics*, 11, 1911–1926.
- Mangiarini L., K. Sathasivam, M. Seller, B. Cozens, A. Harper, C. Hetherington, M. Lawton, Y. Trottier, H. Lehrach, S. W. Davies, and P. Bates.** 1996. "Exon 1 of the HD Gene with an Expanded CAG Repeat Is Sufficient to Cause a Progressive Neurological Phenotype in Transgenic Mice." *Cell*, 87, 493–506.
- Mesec A., B. Peterlin, J. Kobal, and B. Meglic.** 2004. "Early Sympathetic Hyperactivity in Huntington ' S Disease." *European Journal of Neurology*, 11, 842–48.
- Mihm M. J., D. M. Amann, B. L. Schanbacher, R.A. Altschuld, J. A. Bauer, and K. R. Hoyt.** 2008. "Cardiac Dysfunction in the R6/2 Mouse Model of Huntington's Disease." *Neurobiology of Disease*, 25, 297–308.
- Orth M., J. M. Cooper, G. P. Bates, and A. H. V. Schapira.** 2003. "Inclusion Formation in Huntington ' S Disease R6 / 2 Mouse Muscle Cultures." *Journal of Neurochemistry*, 87, 1–6.
- Pearson Ch. E.** 2003. "Slipping While Sleeping ? Trinucleotide Repeat Expansions in Germ Cells." *Trends in Molecular Medicine*, 9, 490–495.
- Petersén A., and M. Björkqvist.** 2006. "Hypothalamic-Endocrine Aspects in Huntington's Disease." *The European Journal of Neuroscience*, 24, 961–967.
- Phan J., M. A. Hickey, P. Zhang, M. Chesselet, and K. Reue.** 2009. "Adipose Tissue Dysfunction Tracks Disease Progression in Two Huntington's Disease Mouse Models." *Human Molecular Genetics*, 18, 1006–16.
- Podolsky S., and N.A. Leopold.** 1977. "Abnormal Glucose Tolerance and Arginine Tolerance Test in Huntington's Disease." *Gerontology*, 23, 55–63.
- Politis M., N. Pavese, F. Tai, S. J. Tabrizi, R. A. Barker, and P. Piccini.** 2008. "Hypothalamic Involvement in Huntington's Disease : An in Vivo PET Study." *Brain* 131, 2860–2869.

- Popovic V., M. Svetel, M. Djurovic, S. Petrovic, M. Doknic, S. Pekic, D. Milic, J. Glodic, C. Diefuez, F. F. Casanueva and V. Kostic.** 2004. "Circulating and Cerebrospinal Fluid Ghrelin and Leptin: Potential Role in Altered Body Weight in Huntington's Disease." *European Journal of Neurology*, 151, 451–55.
- Raamsdonk J. M. V., Z. Murphy, D. M. Selva, R. Hamidizadeh, M. Björkqvist, C. Muir, I. R. Mackenzie, G. L. Hammond, A. W. Vogl, M. R. Hayden, and B. R. Leavitt.** 2007. "Testicular Degeneration in Huntington Disease." *Neurobiology of Disease*, 26, 512–20.
- Rahman A., M. Ekman, Y. Shakirova, K. E. Andersson, M. Mörgelin, J. S. Erjefält, P. Brundin, J. Li, and K. Swärd.** 2013. "Late Onset Vascular Dysfunction in the R6/1 Model of Huntington's Disease." *European Journal of Pharmacology*, 698, 345–353.
- Ramaswamy S., J. L. McBride, and J. H. Kordower.** 2007. "Animal Models of Huntington's Disease." *ILAR Journal*, 48, 356–373.
- Ribchester R. R., D. Thomson, N. I. Wood, T. Hinks, T. H. Gillingwater, T. M. Wishart, F. A. Court, and A. J. Morton.** 2004. "Progressive Abnormalities in Skeletal Muscle and Neuromuscular Junctions of Transgenic Mice Expressing the Huntington's Disease Mutation." *European Journal of Neuroscience*, 20, 3092–3114.
- Rigamonti D., J. H. Bauer, C. De-fraja, L. Conti, S. Sipione, C. Sciorati, E. Clementi, Ch. A. Ross, S. Govani, C. Vincenz, and E. Cattaneo.** 2000. "Wild-Type Huntingtin Protects from Apoptosis Upstream of Caspase-3." *The Journal of Neuroscience*, 20, 3705–3713.
- Ristow M.** 2004. "Neurodegenerative Disorders Associated with Diabetes Mellitus." *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)*, 82, 510–529.
- Roos, R.A. C.** 2010. "Huntington's Disease: A Clinical Review." *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 5, 40–48.
- Rubinsztein D. C., J. L., R. C., E. Almqvist, V. Biancalana, J. Cassiman, K. Chotai, et al.** 1996. "Phenotypic Characterization of Individuals with 30–40 CAG Repeats in the Huntington Disease (HD) Gene Reveals HD Cases with 36 Repeats and Apparently Normal Elderly Individuals with 36–39 Repeats." *Human Genetics*, 59, 16–22.
- Saft C., J. Zange, J. Andrich, K. Müller, K. Lindenberg, B. Landwehrmeyer, M. V. Orgerd, P. H. Kraus, H. Przuntek, and L. Schöls.** 2005. "Mitochondrial Impairment in Patients and Asymptomatic Mutation Carriers of Huntington's Disease." *Movement Disorders*, 20, 674–679.
- Sanberg P. R., C. H. Fibger, and F. M. Richard.** 1981. "Body Weight and Dietary Factors in Huntington's Disease Patients Compared with Matched Controls." *The Medical Journal of Australia*, 1, 407–409.
- Sassone J., C. Colciago, G. Cislighi, V. Silani, and A. Ciammola.** 2009. "Huntington's Disease: The Current State of Research with Peripheral Tissues." *Experimental Neurology*, 219, 385–97.

- Sathasivam, K, C. Hobbs, M. Turmaine, L. Mangiarini, A. Mahal, F. Bertaux, E. E. Wanker, P. Doherty, S. W. Davies, and G. P. Bates.** 1999. "Formation of Polyglutamine Inclusions in Non-CNS Tissue." *Human Molecular Genetics*, 8, 813–22.
- She, P., Z. Zhang, D. Marchionini, W. C. Diaz, T. J. Jetton, S. R. Kimball, T. C. Vary, Ch. H. Lang, and Ch. J. Lynch.** 2011. "Molecular Characterization of Skeletal Muscle Atrophy in the R6/2 Mouse Model of Huntington's Disease." *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 301, 49–61.
- Schilling G., M. W. Becher, A. H. Sharp, H. A. Jinnah, K. Duan, J. A. Kotzuk, H. H. Slunt, T. Ratovitski, J. K. Cooper, n. A. Jenkins, N. G. Copeland, D. L. Price, Ch. A. Ross, and D. R. Borchelt.** 1999. "Intranuclear Inclusions and Neuritic Aggregates in Transgenic Mice Expressing a Mutant N-Terminal Fragment of Huntingtin." *Human Molecular Genetics*, 8, 397–407.
- Srensen S. A., and K. Fenger.** 1992. "Causes of Death in Patients with Huntington ' S Disease and in Unaffected First Degree Relatives." *J Med Genet*, 29, 911–15.
- Strand A. D., A. K. Aragaki, D. Shaw, T. Bird, J. Holton, Ch.Turner, S.J Tapscott, S. J. Tabrizi, A. H. Schapira, Ch. Kooperberg, and J. M. Olson.** 2005. "Gene Expression in Huntington's Disease Skeletal Muscle: A Potential Biomarker." *Human Molecular Genetics*, 14, 1863–1876.
- Trayhurn P., and I. S. Wood.** 2005. "Signalling Role of Adipose Tissue : Adipokines and Inflammation in Obesity." *Biochemical Society*, 33, 1078–81.
- Turner Ch., J. M. Cooper, and A. H. V. Schapira.** 2007. "Clinical Correlates of Mitochondrial Function in Huntington's Disease Muscle." *Movement Disorders : Official Journal of the Movement Disorder Society*, 22, 1715–1721
- Vonsattel J., R. Myers, T. Stevens, R. Ferrante, E. Bird, and E. Richardson.** 1985. "Neuropathological Classification of Huntington's Disease." *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 44, 559–577.
- Wang R., Ch. A. Ross, H. Cai, W. Cong, C. M. Daimon, O. D. Carlson, J. M. Egan, S. Siddiqui, S. Maudsley, and B.Martin.** 2014. "Metabolic and Hormonal Signatures in Pre-Manifest and Manifest Huntington's Disease Patients." *Frontiers in Physiology*, 5, 1–10.
- Yang A. C., T. Chen, S. Tsai, C. Hong, Ch. Kuo, Ch.Yang, and K. Kao.** 2010. "BDNF Val66Met Polymorphism Alters Sympathovagal Balance in Healthy Subjects." *American Journal of Medical Genetics*, 153B, 1024–30.
- Zuccato, Ch., M. Valenza, and E. Cattaneo.** 2010. "Molecular Mechanisms and Potential Therapeutical Targets in Huntington's Disease." *Physiological Reviews*, 90, 905–981.